



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

INCIDÊNCIA E CONSEQUÊNCIAS DA HIPOCALCÉMIA SUBCLÍNICA NO PÓS-PARTO DE
VACAS LEITEIRAS

Gabriela Meleiro da Silva Koch

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luis Filipe Lopes da Costa
Doutor José Pedro da Costa Cardoso de Lemos
Dr. José Inácio Oliveira Alfaça

ORIENTADOR

Dr. José Inácio Oliveira Alfaça

CO-ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2013

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

INCIDÊNCIA E CONSEQUÊNCIAS DA HIPOCALCÉMIA SUBCLÍNICA NO PÓS-PARTO DE
VACAS LEITEIRAS

Gabriela Meleiro da Silva Koch

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luis Filipe Lopes da Costa
Doutor José Pedro da Costa Cardoso de Lemos
Dr. José Inácio Oliveira Alfaça

ORIENTADOR

Dr. José Inácio Oliveira Alfaça

CO-ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2013

LISBOA

Agradecimentos

Ao Dr. José Alface, orientador da tese, pelo apoio, exigência, partilha de conhecimentos e compreensão incondicional, mas especialmente por me ter entusiasmado e colocado a gostar mais do mundo de um médico veterinário numa exploração leiteira.

Ao Prof. Dr. George Stilwell, por ter aceite ser o co-orientador da tese, pelo seu apoio, auxílio, incentivo e sugestões.

À Professora Luísa Mateus pela disponibilidade, paciência, sugestões e esclarecimento de dúvidas durante a elaboração do trabalho.

À Fonte de Leite Lda, pela colaboração na realização deste trabalho ao facultar o investimento necessário para tal e ter disponibilizado todos os materiais necessários durante a realização do estudo.

Finalmente, ao Nuno pelo companheirismo, amizade, partilha constantes, cooperação e pela ajuda e contributo imprescindíveis ao longo dos últimos meses, durante o estágio e realização do trabalho.

INCIDÊNCIA E CONSEQUÊNCIAS DA HIPOCALCÊMIA SUBCLÍNICA NO PÓS-PARTO DE VACAS LEITEIRAS

Resumo

A vaca leiteira tem vindo a apresentar, ao longo dos anos, um aumento notável na sua produção de leite, em parte, devido à rentabilização e aumento da eficiência reprodutiva. No entanto, atualmente, é consensual a existência de uma correlação negativa entre este elevado nível de produção e consequente desempenho reprodutivo, com o estado nutricional e a saúde metabólica do animal.

A diminuição da fertilidade, que acarretam importante impacto na produção leiteira, está essencialmente relacionada com eventos que ocorrem no período peri-parto. Este período, nas vacas leiteiras altas produtoras, é um dos períodos mais críticos da lactação, pois as necessidades nutricionais da vaca estão significativamente aumentadas. No peri-parto, a concentração de cálcio no sangue associa-se com o decréscimo na contração muscular e competência imunitária, pelo que a presença de hipocalcémia condiciona um risco acrescido de doenças uterinas e outras.

A hipocalcémia, ou seja a presença de uma concentração sanguínea de cálcio total $< 2\text{mmol/L}$ ou cálcio ionizado $< 1\text{mmol/L}$, é então um factor determinante e que se deve ter em consideração de forma a se atingir um efetivo saudável e uma normal produção de leite. A hipocalcémia ocorre, de modo geral, durante o parto ou no pós-parto imediato e é considerado um acontecimento inevitável, provocado pelo aumento das necessidades de cálcio que ocorre no início da lactação, com a súbita excreção de cálcio no colostro.

Este estudo procurou avaliar as concentração de cálcio ionizado após o parto e a sua correlação com o parto e doenças reprodutivas, com base numa amostra de 80 vacas leiteiras, com duas ou mais lactações. Para tal, correlacionou-se a presença de hipocalcémia subclínica com a ocorrência de retenção placentária, distócia, metrite tóxica, metrite clínica, inatividade ovárica e endometrite clínica, antes e após a administração de PGF2-alfa. Após a análise dos resultados foi possível estabelecer uma associação significativa ($p=0,05$) entre hipocalcémia subclínica e i) ocorrência de distócia, ii) número de lactações, iii) endometrite clínica antes da administração de PGF2-alfa e iv) involução do cérvix.

Assim a hipocalcémia subclínica está associada a perdas económicas e problemas a nível do bem-estar animal, sendo importante evitar o seu desenvolvimento.

Palavras-chave: Hipocalcémia Subclínica; Doenças uterinas; Involução uterina

INCIDENCE AND CONSEQUENCES OF SUBCLINICAL HYPOCALCAEMIA IN POSTPARTUM DAIRY COWS

Abstract

Over the years, the dairy cow has been presenting a remarkable increase in milk production, partly due to an increase in reproductive efficiency. However, nowadays, it is consensual that there is a negative correlation between reproductive performance and this high level of production with the animal's nutritional status and metabolic health.

The decrease in fertility, which therefore entails a significant impact on milk production, is essentially related to events that occur in the periparturient period. This period, in high producing dairy cows, is one of the most critical periods of lactation because the cows' nutritional needs are significantly increased. During the peri-partum period, the blood concentration of calcium is associated with reduced muscular contraction and immune competence, and so the presence of hypocalcaemia is associated with an increased risk for uterine and other diseases.

Hypocalcaemia, or the presence of a blood concentration of total calcium $< 2\text{mmol/L}$ or ionized calcium $< 1\text{mmol/L}$, is therefore a substantial factor that must be taken into consideration in order to achieve a healthy herd and a high milk production. Hypocalcaemia occurs, in general, during calving or in the immediate postpartum period and is considered an inevitable occurrence caused by increased needs for calcium that take place in early lactation, with the sudden loss of calcium to the colostrum.

Thus, this study sought to evaluate the ionized calcium concentration after calving and the correlation with calving and uterine diseases, based on a sample of 80 dairy cows with two or more lactations. Therefore, the correlation between subclinical hypocalcaemia and dystocia, placenta retention, toxic metritis, clinical metritis, ovarian inactivity and clinical endometritis before and after PGF₂-alpha administration was evaluated. After analyzing the results, it was possible to establish a significant association ($p=0,05$) between the incidence of dystocia and development of subclinical hypocalcaemia, between subclinical hypocalcaemia and the number of lactations, between the occurrence of subclinical hypocalcaemia and clinical endometritis before PGF₂-alpha administration and also between subclinical hypocalcaemia and the cervix involution.

Thus, as subclinical hypocalcaemia is associated with economic losses and welfare problems, it is important to prevent its development.

Keywords: Subclinical hypocalcaemia; Uterine pathologies; Uterine involution

Índice

| | |
|---|-----|
| Agradecimentos | i |
| Resumo | iii |
| Abstract | v |
| Índice..... | vii |
| Lista de figuras..... | ix |
| Lista de tabelas..... | ix |
| Lista de gráficos..... | ix |
| Lista de abreviaturas e siglas | x |
| 1. Introdução | 1 |
| 2. Revisão bibliográfica | 4 |
| 2.1. Cálcio | 4 |
| 2.1.1. Metabolismo e homeostasia do cálcio | 4 |
| 2.1.2. Fatores que contribuem para o risco de hipocalcémia..... | 7 |
| 2.1.3. Consequências da hipocalcémia | 8 |
| 2.2. Fisiologia reprodutiva | 11 |
| 2.2.1. Placenta..... | 11 |
| 2.2.2. O parto | 14 |
| 2.2.3. Separação placentar | 14 |
| 2.2.4. Período pós-parto..... | 15 |
| 2.2.5. Involução uterina | 16 |
| 2.2.6. Reinício da atividade ovárica..... | 20 |
| 2.3. Doenças reprodutivas..... | 22 |
| 2.3.1. Retenção da placenta | 22 |
| 2.3.1.1. Etiologia | 22 |
| 2.3.1.2. Apresentação clínica | 25 |
| 2.3.1.3. Consequências futuras | 27 |
| 2.3.2. Infecções Uterinas no pós-parto | 27 |
| 2.3.2.1. Etiologia e fisiopatologia | 29 |
| 2.3.2.2. Diagnóstico | 30 |
| 2.3.3. Metrite | 31 |
| 2.3.4. Metrite puerperal ou tóxica..... | 32 |
| 2.3.4.1. Etiopatogenia | 32 |
| 2.3.4.2. Apresentação clínica | 33 |
| 2.3.4.3. Diagnósticos diferenciais | 34 |
| 2.3.4.4. Diagnóstico | 34 |
| 2.3.5. Metrite clínica..... | 35 |
| 2.3.6. Endometrite | 35 |
| 2.3.6.1. Etiologia..... | 35 |
| 2.3.6.2. Apresentação clínica | 36 |
| 2.3.6.3. Diagnósticos diferenciais | 37 |
| 2.3.6.4. Diagnóstico | 37 |
| 2.3.6.5. Consequências..... | 38 |
| 2.3.7. Impacto das infecções uterinas | 39 |
| 2.3.8. Alteração da atividade ovárica..... | 40 |
| 3. Materiais e métodos | 41 |
| 3.1. Objetivos..... | 41 |
| 3.2. Tipo de estudo..... | 41 |
| 3.3. Amostra..... | 41 |
| 3.4. Recolha de dados | 42 |
| 3.5. Colheita das amostras | 42 |
| 3.6. Avaliação clínica..... | 43 |
| 3.7. Análise estatística | 45 |
| 4. Resultados | 46 |
| 4.1. Análise descritiva..... | 46 |

| | |
|--|----|
| 4.2. Análise estatística..... | 49 |
| 5. Discussão | 53 |
| 5.1. Hipocalcémia subclínica | 53 |
| 5.2. Distócia | 53 |
| 5.3. Retenção placentária | 54 |
| 5.4. Metrite | 55 |
| 5.5. Inatividade ovárica | 56 |
| 5.6. Endometrite | 57 |
| 5.7. Involução uterina..... | 59 |
| 6. Conclusão | 60 |
| Bibliografia..... | 61 |
| Anexo 1 – Relatório de actividades de estágio..... | 65 |
| Anexo 2 – Tabela de dados pós-parto | 68 |

Lista de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Consequências da Febre do Leite e hipocalcemia subclínica (imagem adaptada de Mulligan <i>et al.</i> (2006)) | 9 |
| Figura 2 - Placenta difusa (imagem adaptada de Senger, 2005)..... | 11 |
| Figura 3 - Placenta discoidal (imagem adaptada de Senger, 2005)..... | 12 |
| Figura 4 - Placenta zonária (imagem adaptada de Senger, 2005)..... | 12 |
| Figura 5 - Placenta cotiledonária (imagem adaptada de Senger, 2005) | 12 |
| Figura 6 - Placenta Cotiledonária (imagem adaptada de Senger, 2005)..... | 13 |
| Figura 7 - Principais eventos do parto até à concepção seguinte, com ênfase nos eventos da involução uterina (imagem adaptada de Senger, 2005)..... | 16 |
| Figura 8 – Variação hormonal no pós-parto (imagem adaptada de Marsiglio, 2009)..... | 21 |
| Figura 9 – Exemplo de vaca com retenção placentária (fotografia original). | 26 |
| Figura 10 - Classificação e diagnóstico de doenças uterinas das vacas no pós-parto (imagem adaptada de Chapwanya, 2004). | 28 |
| Figura 11 – Corrimento vulvar purulento, característico de metrite (fotografia original)..... | 33 |
| Figura 12 – Corrimento mucopurulento recolhido aos 26-32 dias pós-parto e com auxílio de Metrichcek, compatível com endometrite (fotografia original). | 36 |
| Figura 13 – Dispositivo de Metrichcek (imagem retirada de www.quidee.de). | 38 |
| Figura 14 – Tubos simples a vácuo para recolha de sangue (fotografia original). | 42 |
| Figura 15 – Dispositivo Metrichcek (fotografia original). | 42 |
| Figura 16 - Calendarização da recolha de dados após o parto..... | 44 |
| Figura 17 – Esquema do protocolo PreSynch (imagem adaptada de www.merck-animal-health.com) | 57 |
| Figura 18 - Níveis de progesterona no plasma sanguíneo durante o ciclo estrico em bovinos e momento em que o CL se torna sensível à PGF2-alfa (imagem retirada de Horta, 1989)..... | 58 |

Lista de tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Critérios de classificação do corrimento vaginal..... | 44 |
| Tabela 2 - Análise descritiva dos valores de cálcio ionizado (mmol/L)..... | 46 |
| Tabela 3 - Análise descritiva dos valores de cálcio ionizado (mmol/L)..... | 48 |
| Tabela 4 – Distribuição do número de animais com as várias patologias estudadas pelos intervalos de cálcio ionizado (mmol/L). | 48 |
| Tabela 5 - Análise descritiva da evolução dos tamanhos do útero e cérvix | 49 |
| Tabela 6 - Correlação entre as várias patologias em estudo. As correlações significativas para $\alpha = 0,05$ estão em destaque. | 51 |
| Tabela 7 - Correlação entre os níveis de cálcio e o tamanho do cérvix e do útero à palpação. | 52 |

Lista de gráficos

| | |
|---|----|
| Gráfico 1 - Variação da frequência relativa do número de animais com hipocalcemia subclínica por número de lactações (n – frequência absoluta)..... | 46 |
| Gráfico 2 - Incidência no estudo das patologias estudadas..... | 47 |
| Gráfico 3 - Comparação de frequência relativa de hipocalcemia subclínica nas diferentes patologias analisadas. | 50 |

Lista de abreviaturas e siglas

AMP – adenosina monofosfato

BEN – Balanço energético negativo

Ca²⁺ - Ião cálcio

CL – corpo lúteo

cm – Centímetros

DAE – Deslocamento do abomaso à esquerda

dL – Decilitro

DMI – Ingestão de matéria seca

Dpp – Dias pós-parto

EUA – Estados Unidos da América

Ex – Exemplo

g – Grama

GnRH – Hormona libertadora de gonadotrofina

h – Horas

IA – Inseminação Artificial

L – Litro

mg – Miligrama

mmol – milimole

p – correlação

PTH – Hormona da paratiróide (Paratormona)

r - coeficiente de Pearson

RP – Retenção placentária

1. Introdução

Nos últimos anos, a produção de leite da vaca leiteira sofreu um aumento notável (Bruno, 2010). De acordo com Santos *et al.* (2002), também na indústria leiteira da América do Norte se tem observado esta mudança significativa, verificando-se uma tendência para rebanhos maiores e o aumento da produção de leite por vaca.

Este aumento de rendimento é o resultado dos programas de melhoramento genético com seleção de animais que apresentam características favoráveis para uma maior produção de leite. Segundo Bruno (2010), ao comparar curvas de lactação do ano de 1940 com as atuais, verifica-se que a produção de leite por vaca é, nos dias de hoje, quase cinco vezes superior.

A seleção com base na produção de leite é o principal e mais importante objectivo dos programas de criação de gado leiteiro em todo o mundo. Assim, e de modo a rentabilizar a produção de leite, as explorações leiteiras procuram maximizar a eficiência reprodutiva definindo objectivos (ideais), nomeadamente um intervalo entre partos de 12 meses e o estabelecimento de cada nova gestação até aos 85 dias pós-parto (Bruno, 2010).

A eficiência reprodutiva das vacas em lactação é um dos elementos chave para maximizar a rentabilidade das explorações leiteiras, no entanto, apesar do conhecimento sobre a biologia reprodutiva ter aumentado nos últimos tempos, esta eficiência reprodutiva continua a diminuir (Santos *et al.*, 2002; Bisinotto *et al.*, 2012). A diminuição da taxa de fertilidade observada nas vacas leiteiras é consequência de uma complexa lista de eventos e interações entre o balanço energético, função ovárica e função uterina (Santos *et al.*, 2002; Bruno, 2010).

Recentemente, vários estudos revistos em 2010 e 2012 por Bruno e Bisinotto *et al.*, relataram uma correlação negativa entre o desempenho reprodutivo e o nível elevado de produção de leite e, entre o estado nutricional e a saúde metabólica. A saúde metabólica, quando prejudicada, leva a um estado de imunossupressão e ao desenvolvimento de doenças que limitam ainda mais a fertilidade (Bruno, 2010; Bisinotto *et al.*, 2012). A diminuição na fertilidade, para além da relação com a produção leiteira, é ainda influenciada por alguns eventos que ocorrem no período peri-parto. Vacas que apresentam retenção da placenta (RP), metrite, hipocalcémia e outras patologias durante esse período, apresentam um maior risco de atrasos na concepção, aumento do intervalo entre partos, atraso no retorno à ovulação, menor taxa de gestação por inseminação artificial (IA), e maior taxa de falha de gestação. Estes eventos podem não prejudicar de forma direta a reprodução, mas afetam a saúde da vaca com efeitos indesejáveis que perduram durante toda a lactação (Santos *et al.*, 2002; Bruno, 2010; Bisinotto *et al.*, 2012).

Assim, o período peri-parto das vacas leiteiras altas produtoras é um dos períodos mais críticos da lactação, principalmente porque as necessidades nutricionais da vaca aumentam

significativamente, de modo a sustentar o crescimento fetal, desenvolvimento da glândula mamária e a lactogénese. Durante este período, a vaca apresenta ainda uma diminuição da ingestão de matéria seca (DMI), que constitui um factor de risco importante para a ocorrência de doenças uterinas e metabólicas no pós-parto, e diminuição da fertilidade. As necessidades nutricionais e metabólicas mantêm-se elevadas após o parto de modo a suportarem um aumento progressivo da produção de leite (Bruno, 2010).

O período peri-parto é, portanto, caracterizado por alterações metabólicas drásticas, balanço energético negativo (BEN), hipocalcémia e imunossupressão. Estas adaptações contribuem para uma maior incidência de doenças e consequente uma diminuição da eficiência produtiva dos animais, uma vez que a maioria tem efeitos negativos sobre a fertilidade (Santos *et al.*, 2002; Nogueira, 2010; Santos *et al.*, 2012; Bisinotto *et al.*, 2012).

O *stress*, com origem numa série de factores relacionados com o parto e o início da lactação, provoca um estado de imunodepressão, caracterizado pela diminuição na função dos neutrófilos e na produção de linfócitos. Estas alterações imunológicas estendem-se desde as 2 semanas antes do parto até às 3 - 4 semanas após. A diminuição da função imunitária ocorre devido aos desafios impostos pelo início da lactação sobre os mecanismos responsáveis pela produção energética, anabolismo e homeostase mineral da vaca (Smith *et al.*, 2007; Bruno, 2010; Goff, 2011). O balanço negativo de nutrientes também se relaciona com o comprometimento das funções reprodutivas, nomeadamente afectando o crescimento folicular, a qualidade do oócito e o aumento do período de anestro (Santos *et al.*, 2002; Bisinotto *et al.*, 2012).

A concentração de cálcio no sangue no peri-parto, associa-se com a competência imunitária e a presença de hipocalcémia condiciona um risco acrescido de doenças uterinas, entre outras. No entanto, a presença de hipocalcémia pode passar despercebida, uma vez que nem sempre se associa a sinais clínicos (Bisinotto *et al.*, 2012). A Febre do Leite, também conhecida como *paresia puerperalis* ou hipocalcémia clínica, tem consequências graves na produção leiteira,. No entanto, também a hipocalcémia subclínica parece contribuir para a diminuição da contração muscular lisa, da motilidade do rúmen e abomaso, redução da ingestão de DMI e da produção de leite no início da lactação, assim como para o desenvolvimento de outras patologias. A hipocalcémia subclínica pode mesmo ter maior impacto sobre a economia das explorações leiteiras quando comparada com a sua forma clínica (Crnkic *et al.*, 2010).

O impacto económico associado à hipocalcémia subclínica deve-se sobretudo à ausência de sinais clínicos e, portanto, ao seu diagnóstico (Duffield, 2006).

É universalmente aceite que a hipocalcémia subclínica constitui uma patologia importante em vacas de produção leiteira. No entanto, os estudos sobre o seu impacto no desenvolvimento de

outras doenças e sobre a produção de leite são ainda escassos e insuficientes (Duffield, 2006). A compreensão da patogenia da hipocalcémia é de enorme importância para o estabelecimento de medidas preventivas e redução dos efeitos a nível da reprodução e produção leiteira, por todos os factores já mencionados (Smith *et al.*, 2007; Goff, 2011).

O manejo nutricional da vaca leiteira, especialmente durante os períodos de maior necessidade e *stress* biológico, é uma ferramenta importante para melhorar a saúde animal e rentabilizar a taxa reprodutiva.

O manejo reprodutivo tem como objectivo a temporização da gestação num intervalo de tempo biologicamente óptimo e economicamente rentável. Assim, a avaliação no pós-parto deve permitir tempo suficiente para que ocorra um processo normal de involução do aparelho reprodutivo e, se necessário, permitir a realização de procedimentos terapêuticos e a recuperação clínica do animal, antes do início de um novo período de reprodução (Sheldon *et al.*, 2006).

O conhecimento da prevalência e impacto da hipocalcémia subclínica na produção leiteira contribui para um melhor manejo nutricional e reprodutivo, com melhoria global das taxas de reprodução e da produção de leite.

Assim este estudo, referente aos efeitos da hipocalcémia subclínica sobre o aparelho reprodutivo e a evolução no pós-parto, pretende contribuir para o esclarecimento deste tema que, hoje em dia, é ainda pouco compreendido.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Cálcio

2.1.1. Metabolismo e homeostasia do cálcio

A homeostasia resulta da adaptação e ajuste contínuo às alterações do meio ambiente, sendo uma condição fundamental nos seres vivos.

O parto, devido ao aumento abrupto na necessidade de nutrientes a que se associa, aos seus efeitos hormonais e à expressão de factores de transcrição, causa perturbações significativas na homeostasia condicionando, entre outras, diversas alterações nas concentrações minerais sanguíneas das vacas durante o período pós-parto (Kincaid, 2008).

A vaca periparturiente sofre uma transição importante na altura do parto, passando de um estado gestante não-lactante para um estado não-gestante lactante. Este período de transição, que inclui as três semanas antes e depois do parto, é caracterizado por um maior *stress* fisiológico e acarreta um risco elevado de alterações metabólicas (Roche & Berry, 2006; Goff, 2008; Kincaid, 2008; Lager & Jordan, 2012).

As alterações das concentrações minerais séricas no peri-parto, nomeadamente do cálcio, resultam de alterações na ingestão de matéria seca (DMI), na concentração dos nutrientes na dieta, da transferência de nutrientes para o feto, de alterações hormonais, do início da síntese de colostro e da diminuição do peso corporal (Kincaid, 2008).

O cálcio é necessário para a realização de várias funções vitais, nomeadamente na síntese de leite, na contração muscular, e desempenhando funções como segundo mensageiro ou co-factor em diversas vias metabólicas intracelulares (Bruno, 2010). A deficiência em cálcio nas vacas leiteiras no período pós-parto constitui um problema grave, pois é durante a lactação que os requisitos de cálcio são maiores. Durante o período seco, as necessidades de cálcio da vaca são mínimas, apenas necessárias para a manutenção e desenvolvimento fetal. No entanto, logo após o parto, as necessidades de cálcio são muito superiores e a sua concentração sanguínea diminui significativamente, apesar dos mecanismos de homeostasia desencadeados (Sarwar *et al.*, 2000; Nogueira, 2010). As necessidades de cálcio aumentam neste período devido ao início da lactação, com a síntese e secreção de colostro (Mateus & Lopes da Costa, 2002; Kincaid, 2008; Santos *et al.*, 2012; Bisinotto *et al.*, 2012).

Segundo Bisinotto *et al.* (2012), a concentração total de cálcio no colostro varia de 2-3g/L, o que corresponde a cerca de 8-10 superior à reserva de cálcio sérico numa vaca leiteira alta produtora.

Assim, durante o período de transição, com a produção de colostro, as perdas de cálcio são superiores ao seu aporte pela dieta ou mobilização óssea, resultando em concentrações subnormais de cálcio e conduzindo ao desenvolvimento de hipocalcémia. De acordo com a

dimensão do déficit de cálcio, as vacas podem evidenciar ou não sinais clínicos de hipocalcemia - Hipocalcemia Clínica ou Subclínica (Roche & Berry, 2006; Bruno, 2010; Lager & Jordan, 2012)

A reserva de cálcio sérico é composta por três diferentes formas: o cálcio ionizado ou livre; o cálcio ligado a proteínas, principalmente à albumina; e o cálcio ligado a outros íons formando complexos (principalmente fosfato). A forma ionizada é a única forma biologicamente ativa, representando cerca de 50% da reserva de cálcio total (Sarwar *et al.*, 2000; Hansen *et al.*, 2003).

Os principais mecanismos da homeostasia do cálcio que contribuem para a prevenção da diminuição da sua concentração sérica no início da lactação, consistem na remodelação óssea, ou seja, na reabsorção de cálcio do osso, e no aumento na absorção de cálcio da dieta. Segundo Goff (2008), a vaca leiteira entra num estado de osteoporose lactacional, de modo a manter a normocalcemia durante esse período. A reabsorção óssea condiciona uma perda de cerca de 9-13% do cálcio ósseo no primeiro mês, potencialmente reversível nos meses seguintes (Sarwar *et al.*, 2000; Goff, 2008; Bisinotto *et al.*, 2012). Assim, a quantidade total de cálcio na reserva sanguínea depende essencialmente da sua absorção intestinal, da sua mobilização óssea e ainda da dissociação das proteínas a que está ligado (Sarwar *et al.*, 2000). O osso é a principal fonte de cálcio durante os períodos onde o seu aporte está reduzido, sendo que o cálcio ósseo encontra-se distribuído no meio extracelular, em pequena quantidade e rapidamente disponível e no interior dos canaliculos ósseos. A mobilização óssea de cálcio é mediada pela hormona paratiroidea (PTH), produzida em resposta à diminuição na concentração sanguínea de cálcio (Sarwar *et al.*, 2000; Goff, 2008). A PTH participa ainda no reforço da reabsorção tubular renal de cálcio, embora a quantidade total de cálcio recuperada desta forma não seja muito significativa, uma vez que a excreção renal de cálcio é muito reduzida (Goff, 2008; Divers & Peek, 2008). Neste processo, a PTH atua sobre a enzima renal 1-alfa-hidroxilase, induzindo a produção de 1,25 di-hidrovitamina D3. Esta hormona, por sua vez, atua de forma sinérgica com a PTH estimulando a reabsorção tubular renal, a reabsorção osteoclástica e o aumento da absorção intestinal de cálcio (Sarwar *et al.*, 2000; Divers & Peek, 2008). A absorção intestinal de cálcio ocorre através de dois mecanismos, por transporte ativo (através das células intestinais) ou por transporte passivo (entre as células intestinais). O transporte passivo depende do gradiente de concentração, ocorrendo difusão de cálcio do local com maior concentração para o de menor, e apenas quando as concentrações de cálcio ionizado intestinal ultrapassam 1 mmol/L (Thilsing-Hansen *et al.*, 2002)

Na presença de um elevado aporte de cálcio na dieta, as necessidades das vacas são suprimidas apenas através da absorção passiva de cálcio. No entanto, no peri-parto, a vaca

absorve o cálcio intestinal de forma ativa, e de forma progressivamente mais eficaz, à medida que ocorre a ativação dos mecanismos de mobilização do cálcio, geralmente num ou dois dias. Assim, neste período, devido ao atraso dos mecanismos de homeostasia os níveis sanguíneos de cálcio diminuem, podendo ocorrer hipocalcémia e eventualmente Febre do Leite (Divers & Peek, 2008; Nogueira, 2010).

Existe uma grande variabilidade dos valores de referência do cálcio sérico e nas unidades utilizadas entre laboratórios, sendo exemplo os intervalos de valores referidos por diversos autores:

- Segundo Hansen *et al.* (2003), a concentração sanguínea fisiológica de cálcio total encontra-se entre os 2,19 – 2,83 mmol/L ou 8,76-11,32 mg/dL e a concentração de cálcio ionizado entre os 1,06-1,26 mmol/L ou 4,24-5,04 mg/dL;
- Segundo Bruno (2010) e Divers & Peek (2008) a concentração de cálcio total é de 2,13-2,5 mmol/L ou 8,5-10 mg/dl;
- Segundo Mateus & Lopes da Costa (2002), o intervalo normal do cálcio total é de 2-2,5 mmol/L ou 8-10 mg/dl.

No entanto, quando a concentração de cálcio total é inferior a 2 mmol/L ou 8,0 mg/dl, e a concentração de cálcio ionizado é inferior a 1 mmol/L ou 4,0 mg/dL, considera-se que a vaca apresenta hipocalcémia subclínica desde que não apresente sinais clínicos, e verificando-se apenas uma diminuição na função do músculo liso. Em situações em que a concentração de cálcio total é inferior a 1,4 mmol/L ou 5,6 mg/dL e existem sinais clínicos associados, considera-se que existe uma hipocalcémia clínica, também designada por Febre do Leite, onde a concentração de cálcio se torna insuficiente para suportar tanto a função muscular como a neurológica (Hansen *et al.*, 2003; Roche & Berry, 2006; Nogueira, 2010; Oetzel, 2011).

A prevalência de hipocalcémia subclínica varia consoante a definição utilizada mas, segundo Duffield (2006), atinge geralmente cerca de 20 a 40% de vacas leiteiras no período pós-parto. Outros estudos sugerem que a sua incidência é superior a 40% nas vacas após o parto (Crnkic *et al.*, 2010), cerca de 50% nas vacas com duas ou mais lactações (Oetzel, 2011) e que persiste em cerca de 22% até aos 10 dias pós-parto (Charbonneau *et al.*, 2008). Sendo uma forma subclínica e portanto mais difícil de diagnosticar, a hipocalcémia subclínica tem potencialmente maior impacto económico que a sua forma clínica, uma vez que afeta uma maior percentagem de animais e fica muitas vezes por tratar (Oetzel, 2011; Oetzel & Miller, 2011).

Em suma, a capacidade da vaca leiteira em manter concentrações séricas de cálcio dentro dos valores fisiológicos é colocada à prova no início de cada nova lactação, pois sendo o leite, incluindo o colostro, extremamente rico em cálcio, exige uma rápida adaptação do metabolismo em resposta à perda abrupta de grandes quantidades de cálcio. Assim, não é surpreendente que, em consequência do aumento súbito das necessidades de cálcio, juntamente com o período de adaptação da absorção intestinal e óssea, a maioria das vacas leiteiras desenvolva um certo grau de hipocalcémia durante os primeiros dias após o parto (Kimura *et al.*, 2006; Goff, 2008; Oetzel, 2011). Na fase inicial de desenvolvimento de hipocalcémia, vacas com concentrações sanguíneas de cálcio total abaixo de 2,0mmol/L ou 8-10mg/dl não apresentam, geralmente, sinais clínicos, mantendo-se assintomáticas, e manifestando apenas as consequências do déficit (Mateus & Lopes da Costa, 2002; Hansen *et al.*, 2003).

2.1.2. Fatores que contribuem para o risco de hipocalcémia

Existem vários factores que parecem determinar a gravidade da hipocalcémia no periparto. Os factores metabólicos que contribuem para o risco de desenvolvimento de hipocalcémia nas vacas leiteiras continuam a ser uma questão controversa. No entanto, existem evidências de que a idade, a raça e factores endócrinos podem aumentar o risco de hipocalcémia (Lean *et al.*, 2006; Divers & Peek, 2008; Goff, 2008 e Nogueira, 2010).

Factores metabólicos:

- Alcalose metabólica: Interfere com a função da PTH, ao provocar uma alteração na conformação do seu receptor e diminuindo a resposta celular à PTH e diminuindo a eficácia dos mecanismos de homeostasia do cálcio a nível ósseo, intestinal e renal .
- Hipomagnesiémia: diminui a secreção de PTH na presença de hipocalcémia, assim como, a sensibilidade tecidual à PTH. O magnésio é um importante co-factor na transdução do sinal intracelular em resposta à PTH. A presença de hipomagnesiémia interfere com a ação da PTH, independentemente da presença de alcalose metabólica.

Idade da vaca:

À medida que as vacas envelhecem, apresentam maior risco de desenvolverem hipocalcémica clínica, como consequência da diminuição do número de células ósseas, da reserva óssea de cálcio e da capacidade de remodelação óssea, da capacidade de absorção intestinal de cálcio e da capacidade de resposta à PTH devido à redução do número de receptores desta hormona nos tecidos periféricos. Assim, a concentração

média de cálcio no sangue diminui mais significativamente em vacas com maior idade (com duas ou mais lactações) do que em primíparas, verificando-se valores mais baixos por volta das 12-24h após o parto (Kimura *et al.*, 2006; Goff, 2008; Oetzel, 2011; Bisinotto *et al.*, 2012). De facto e segundo estudos americanos, cerca de 54% de vacas múltiparas (até à 6^a lactação) e apenas 25% de vacas primíparas apresentam hipocalcémia subclínica nas primeiras 48h pós-parto (Sarwar *et al.*, 2000; Kincaid, 2008; Bisinotto *et al.*, 2012).

Raça:

A Febre do Leite, ou hipocalcémica clínica, apresenta maior incidência em bovinos de raça Jersey. Dois factores que contribuem para este facto, devem-se à maior concentração de cálcio no leite e colostro, e ao menor número de receptores intestinais para a 1,25-di-hidrovitamina-D₃ existentes em vacas desta raça.

Factores Hormonais:

A concentração de estrogénio aumenta nos últimos dias de gestação, exercendo um efeito negativo sobre a mobilização óssea de cálcio. Este factor não é, no entanto, determinante para o desenvolvimento de Febre do Leite.

2.1.3. Consequências da hipocalcémia

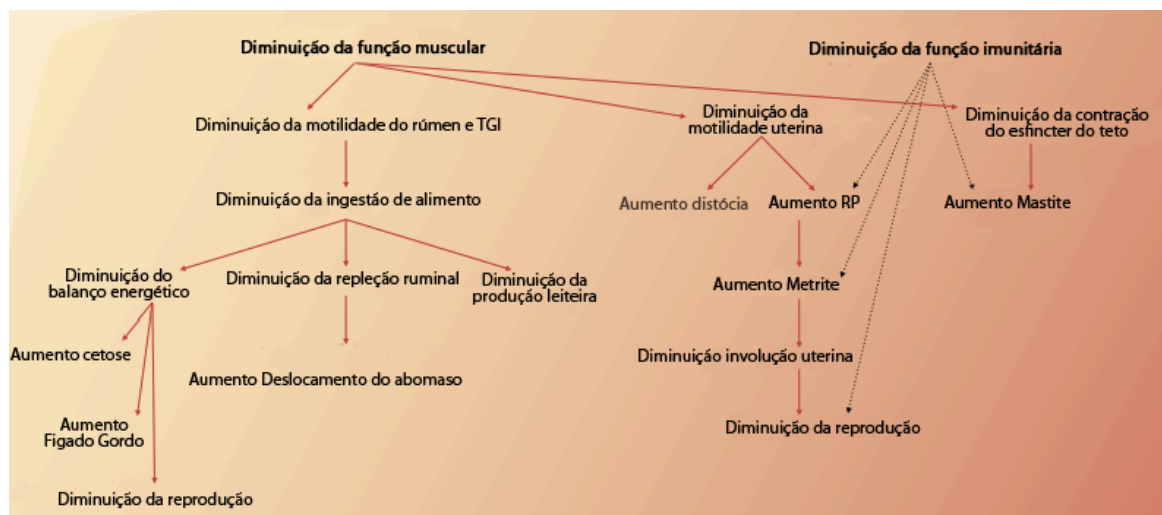
A manutenção de valores fisiológicos de cálcio sérico é fundamental para a contração muscular, transmissão de impulsos nervosos e função imunológica. Logo, alterações na sua concentração implicam consequências a vários níveis (Divers & Peek, 2008; Bisinotto *et al.*, 2012).

Devido ao seu papel na contração muscular, na presença de hipocalcémia no pós-parto, ocorre (Mulligan *et al.*, 2006; Kincaid, 2008; Goff, 2008; Nogueira, 2010) (Figura 1):

- Redução do número e da amplitude das contrações ruminais, reduzindo a ingestão de alimentos e condicionando uma maior mobilização da gordura corporal;
- Redução da motilidade ruminal e abomasal, levando à atonia e distensão do abomaso, aumentando o risco de ocorrer deslocamento do abomaso;
- Redução da contração muscular, nomeadamente do esfíncter do teto, responsável pelo encerramento do orifício do teto após a ordenha, acarretando maior risco de mastite;

- A diminuição da função muscular e neurológica podem levar com que a vaca perca a capacidade de se manter em pé, sendo um sintoma frequente nos casos de hipocalcemia clínica.

Figura 1 - Consequências da Febre do Leite e hipocalcemia subclínica (imagem adaptada de Mulligan *et al.* (2006))



O cálcio é ainda importante para a competência imunitária. A diminuição das reservas de cálcio intracelular no sistema imune prejudica de forma direta a resposta celular a um estímulo de ativação, contribuindo para um estado de supressão imunitária. Em vacas com Febre do Leite, as reservas intracelulares e fluxo intracelular de cálcio em resposta à ativação estão diminuídos nos linfócitos. A diminuição da função imune pode ainda ser influenciada pelas concentrações de cortisol plasmático no peri-parto, que se encontra, por sua vez, elevado em vacas com hipocalcemia (Kimura *et al.*, 2006; Goff, 2008; Nogueira, 2010; Santos *et al.*, 2012; Bisinotto *et al.*, 2012).

Nas vacas leiteiras, o estado de imunodepressão no peri-parto constitui um risco importante para o desenvolvimento de doenças uterinas, que acarretam implicações na saúde uterina e fertilidade (Santos *et al.*, 2012; Bisinotto *et al.*, 2012). As doenças uterinas mais frequentemente implicadas, segundo Mulligan *et al.* (2006), Kimura *et al.* (2006), Santos *et al.* (2012) e Bisinotto *et al.* (2012), são (Figura 1):

- Distócia e prolapso uterino - Ocorre um aumento de casos de distócia em vacas com Febre do Leite quando comparadas com vacas saudáveis, e existem concentrações de cálcio inferiores ao normal em vacas com prolapso uterino;

- Retenção da Placenta (RP) – o desenvolvimento de Febre do Leite contribui, de forma indireta, para a ocorrência de RP, devido ao risco de distócia;
- Endometrite – existe uma associação entre o desenvolvimento de Febre do Leite e de endometrite, não só devido ao maior risco de distócia e RP mas, também devido ao estado de imunossupressão peri-parto.

Ligeiras variações na concentração sérica de cálcio, não estão geralmente associadas a sintomas clínicos, não sendo diagnosticadas ou tratadas, e produzindo efeitos negativos significativos na saúde e fertilidade pós-parto. Tal como a Febre do Leite, a hipocalcémia subclínica aumenta o risco de desenvolvimento de distócia, alterações metabólicas e doenças infecciosas, diminuição do desempenho reprodutivo e da produção leiteira e, ainda, contribui para um maior risco de refugo no início da lactação (Kimura *et al.*, 2006; Goff, 2008; Oetzel & Miller, 2011; Bisinotto *et al.*, 2012).

A hipocalcémia subclínica e a Febre do Leite são consideradas “*gateway diseases*”, ou seja, doenças que contribuem para o desenvolvimento de outras patologias, diminuindo de forma significativa a hipótese de se obter uma produtividade completa na lactação que se inicia (Goff, 2008; Nogueira, 2010).

Em suma, das diferentes doenças metabólicas a que as vacas leiteiras estão sujeitas no período peri-parto, a Febre do Leite e a hipocalcémia subclínica são as alterações de macrominerais mais importantes, e potencialmente mais problemáticas (Mulligan *et al.*, 2006; Nogueira, 2010).

2.2. Fisiologia reprodutiva

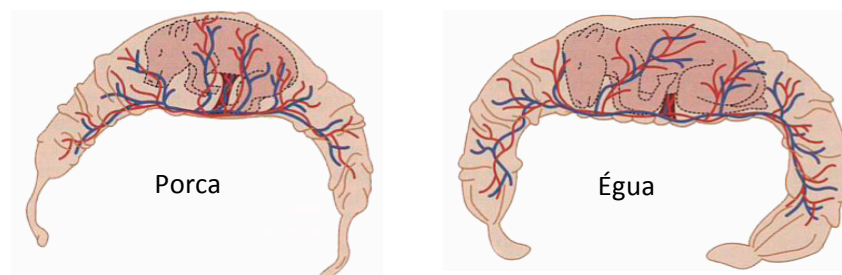
2.2.1. Placenta

A placenta tem como função o fornecimento de oxigénio e nutrientes, a remoção de detritos metabólicos, a produção de hormonas e a regulação do ambiente uterino. É formada pela justaposição ou fusão das membranas fetais com o endométrio, permitindo trocas fisiológicas entre a mãe e o feto.

A placenta pode ser classificada quanto à:

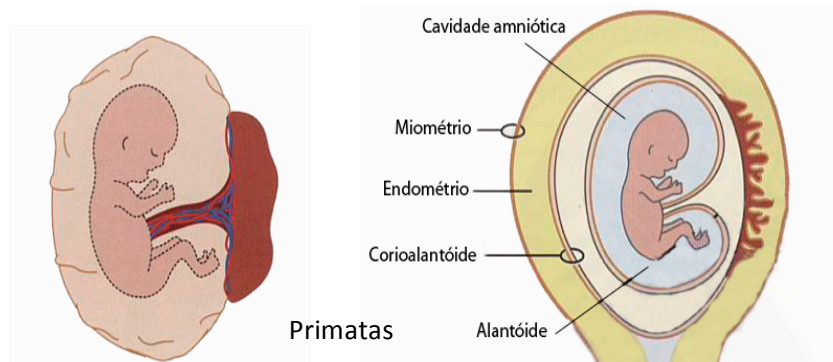
- Relação entre a vilosidade coriônica fetal e a cripta da mucosa uterina (Senger, 2005):
 - Adecídua: existe uma aderência firme do epitélio corial ao uterino, não ocorrem lesões da parede uterina, e os anexos fetais não são eliminados durante a fase de expulsão fetal. Ex: suínos, equídeos e ruminantes;
 - Decídua: ocorre dissolução da mucosa uterina para a união das partes fetais e maternas da placenta, sendo a eliminação dos anexos fetais na fase de expulsão fetal. Ex: Carnívoros, Primatas
- Distribuição das vilosidades (Senger, 2005):
 - Difusa (Figura 2): o saco coriônico encontra-se unido ao endométrio através de pregas, de forma uniforme. As interdigitações prolongam-se pela maior parte da superfície coriônica. Ex: suínos e equídeos;

Figura 2 - Placenta difusa (imagem adaptada de Senger, 2005)



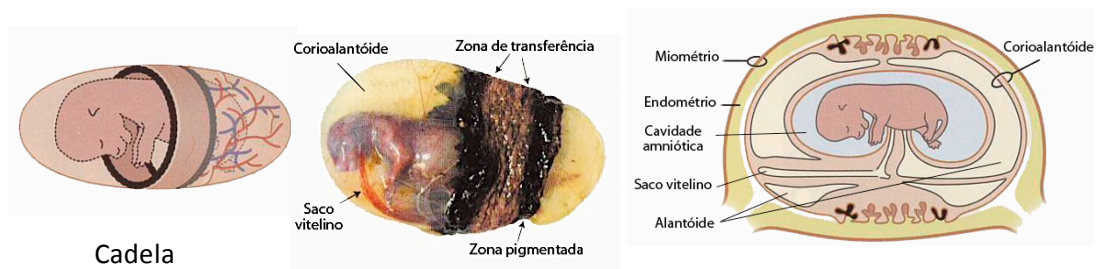
- Discoidal (Figura 3): as interdigitações individualizam-se em forma de disco. Ex: primatas e roedores;

Figura 3 - Placenta discoidal (imagem adaptada de Senger, 2005)



- Zonária (Figura 4): as vilosidades coriônicas estão unidas ao endométrio e a zona de contacto das interdigitações ocupa uma faixa central, tipo cinto, à volta do saco coriônico. Ex: carnívoros.

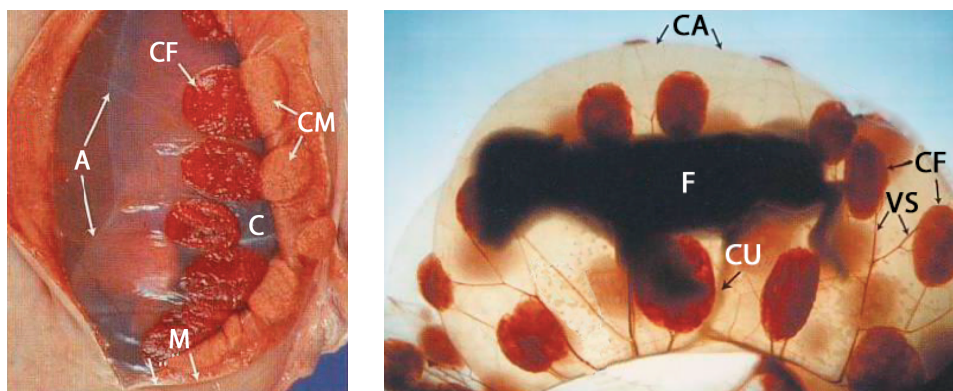
Figura 4 - Placenta zonária (imagem adaptada de Senger, 2005)



- Cotiledonária (Figura 5): característica dos ruminantes, as vilosidades coriônicas agrupam-se em círculos bem definidos, os cotilédones, que se desenvolvem em regiões onde o córion contacta áreas predeterminadas do endométrio, as carúnculas. As interdigitações estão em áreas placentárias, os placentomas, separadas por áreas intercotiledonárias.

Figura 5 - Placenta cotiledonária (imagem adaptada de Senger, 2005)

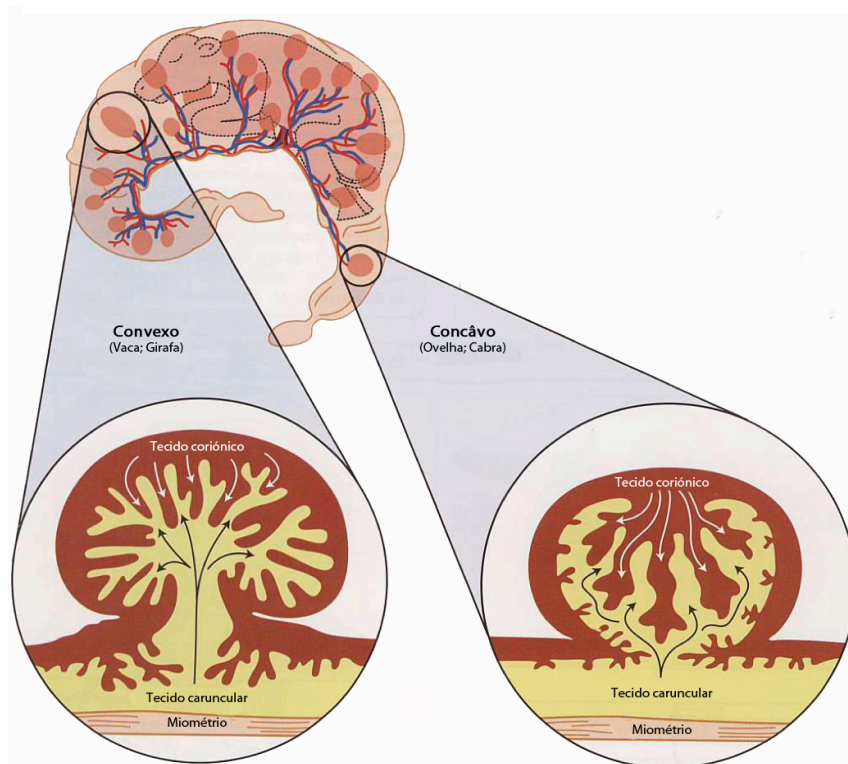
A – Alantóide; CF – Cotilédones fetais; CM – Cotilédones maternos;
M – miométrio; CA – corioalantóide; VS – vasos sanguíneos; CU – Cordão umbilical



- Separação entre a corrente sanguínea materna e fetal (Senger, 2005):
 - Epiteliocorial: o epitélio coriônico e o endotélio estão preservados, devido a uma implantação superficial. Ex: suínos e equídeos
 - Sinoepiteliocorial: semelhante à anterior, mas ocorre fusão entre algumas células trofoblásticas e epiteliais uterinas. Ex: ruminantes
 - Endoteliocorial: as células trofoblásticas migram profundamente até ao endotélio materno. Ex: morcegos e carnívoros
 - Hemocorial: existe um contacto quase direto entre o epitélio coriônico fetal e o sangue materno. Ex: humanos, leporídeos

Em suma, a vaca leiteira apresenta uma placenta cotiledonar, constituída por cotilédones côncavos, pertencentes aos anexos do embrião, e por carúnculas, com forma convexa e pertencentes ao endométrio (**Figura 6**). A união entre estas duas formações (cotilédones e carúnculas) é mediada através de colagénio e designada de placentoma, estando dispersas ao longo de toda a área placentária (Oliveira, 2008).

Figura 6 - Placenta Cotiledonária (imagem adaptada de Senger, 2005)



2.2.2. O parto

O parto é uma etapa no processo reprodutivo que antecede a lactação, a involução uterina e o retorno à ciclicidade ovárica. O seu início é desencadeado por estímulos fetais, envolvendo uma complexa cascata de eventos endócrinos que promovem a contração do miométrio, a dilatação do cérvix, a expulsão fetal e das membranas extra-embriônicas (Senger, 2005). O parto normalmente divide-se em três fases (Oliveira, 2008):

- 1ª Fase - Dilatação cervical (duração de 2 a 6 horas);
- 2ª Fase - Expulsão fetal (duração de 30 min a 1 hora);
- 3ª Fase - Expulsão das membranas fetais (deve estar completa até às 12h pós parto.)

2.2.3. Separação placentar

Ao conhecer o tipo de placenta e as diferentes fases do parto, torna-se mais fácil compreender os mecanismos fisiológicos da separação das membranas fetais, os seus aspectos mecânicos e histológicos (Horta, 2000; Oliveira, 2008):

– Fase Pré-Parto: Maturação dos Placentomas

Este processo desencadeia a separação da placenta, ocorrendo a partir dos últimos meses de gestação, através de alterações a nível do epitélio placentar e do tecido conjuntivo de suporte. A maturação dos placentomas envolve a ação de enzimas, a migração de células inflamatórias e a ação hormonal (Horta, 2000; Oliveira, 2008).

As carúnculas tornam-se progressivamente mais ricas em colagénio até à altura do parto, sendo mais evidente esta esclerose funcional na zona marginal da carúncula, na periferia das criptas (Horta, 2000; Oliveira, 2008). Ocorre migração de células inflamatórias, com atividade fagocítica, e formação de células gigantes polinucleadas no interior dos placentomas e, por ação de estrogénios, ocorre ainda infiltração hídrica e tumefacção do tecido conjuntivo (Oliveira, 2008).

– Fase Intra-Parto

Consiste na separação mecânica, mediada pela elevada pressão uterina durante o parto provocada pelas contrações uterinas da fase expulsiva, mediadas por estradiol e PGF2-alfa e reforçadas pela ação da ocitocina, que é libertada na circulação sistémica (Senger, 2005). Nesta fase, devido às alterações da pressão intra-uterina, ocorrem estados alternados de falta e excesso de circulação nos placentomas, provocando alteração na forma das vilosidades e perturbando a ligação do epitélio coriônico às criptas uterinas (Horta, 2000; Oliveira, 2008).

– Fase Pós-parto: Isquemia das vilosidades

Ocorre imediatamente após o parto, sendo desencadeada pela ruptura do cordão umbilical e hemorragia funicular, que levam à diminuição da pressão sanguínea na circulação placentar e isquemia das vilosidades (Horta, 2000; Oliveira, 2008).

– Terceira fase do parto: Redução do tamanho das carúnculas

Compreende a última fase de separação da placenta e é mediada por mecanismos puramente mecânicos. A placenta sofre inversão, devido às contrações uterinas do pós-parto que permitem completar o processo de destacamento e a expulsão das membranas fetais, contribuindo para a redução do tamanho do útero. Verifica-se a diminuição de volume do pedúnculo caruncular e a dilatação das criptas maternas (Horta, 2000; Oliveira, 2008).

Qualquer interferência no processo normal destes mecanismos, como a presença de doenças metabólicas (ex: cetose e hipocalcemia) ou fatores ambientais, nutricionais e infecciosos, pode alterar a capacidade de expulsão placentar e predispor à retenção placentária nas vacas leiteiras (Oliveira, 2008; Peligrino *et al.*, 2008).

A compreensão da fisiologia da separação e expulsão da placenta e dos mecanismos envolvidos, permite identificar os fatores que predisõem à retenção da placenta e as suas consequências nas vacas de leite, e analisar estratégias para a sua prevenção e tratamento (Oliveira, 2008).

2.2.4. Período pós-parto

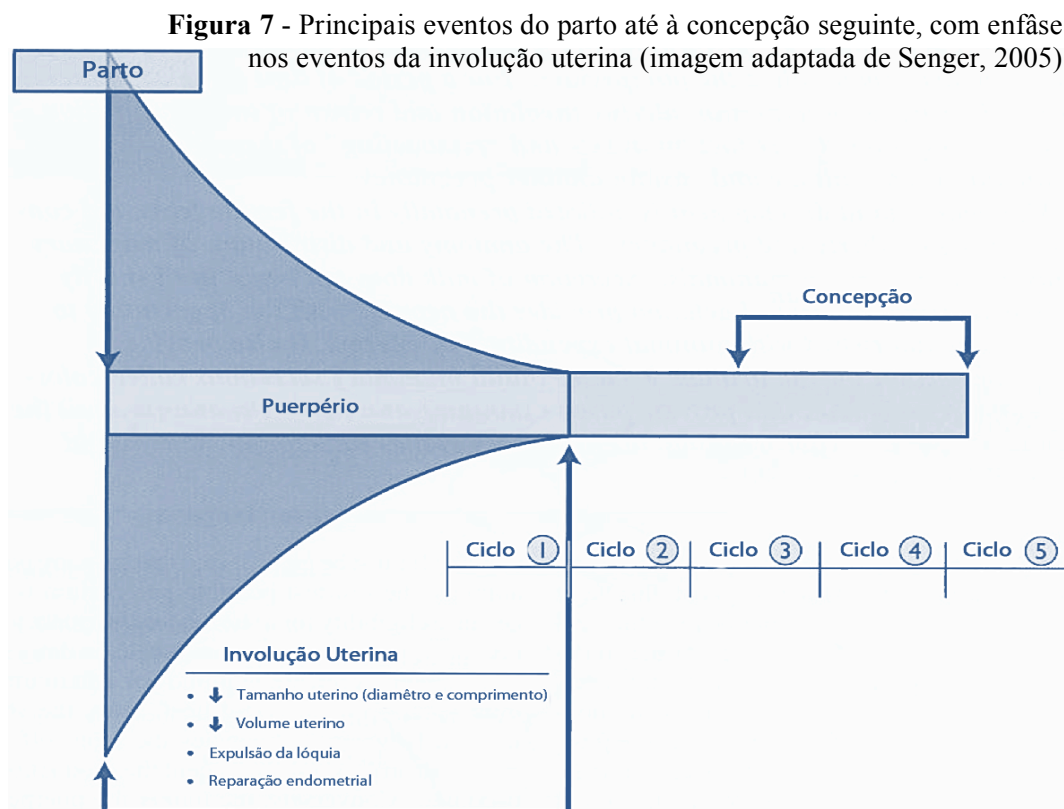
O período pós-parto, também designado por puerpério, é definido como o período logo após o parto quando o aparelho reprodutivo volta ao seu estado não-gravídico, persiste durante a lactação e termina com a restauração da função reprodutiva (Senger, 2005). Segundo vários autores, nomeadamente Hafez & Hafez (2000), Senger (2005) e Sheldon *et al.* (2008), o tempo necessário para completar estes eventos varia significativamente entre as espécies, sendo que na vaca, a involução uterina completa-se aos 45-50 dias e o retorno da atividade ovárica completa-se aos 18-25 dias e implica diversos processos fisiológicos e anatômicos:

- Contração do miométrio e expulsão de lóquias;
- Reparação do endométrio;
- Involução uterina
- Retorno à atividade cíclica ovárica;
- Eliminação da contaminação bacteriana do trato reprodutivo.

Segundo Sheldon *et al.* (2008), este período é iniciado pela expulsão fetal, juntamente com as membranas e fluídos associados ao parto. Estes eventos ocorrem em todas as vacas no período pós-parto, independentemente da existência de doenças do peri-parto, alterações ambientais adversas ou carências alimentares. Nas vacas e outros animais poliétricos (com mais de um período de estro anual, ou seja, com um ciclo éstrico), o período do puerpério deve ser o mais curto possível pois é, economicamente importante, o desenvolvimento precoce da gestação seguinte de modo a maximizar a produção de leite (Senger, 2005). Nas situações em que ocorre prolongamento do puerpério, verifica-se um atraso no estabelecimento da gestação seguinte que comporta vários inconvenientes – persistência da curva de lactação e aumento da condição corporal da vaca (Senger, 2005).

2.2.5. Involução uterina

Após o parto ocorre a restauração do útero à sua função e tamanho normais (Hafez & Hafez, 2000). Hafez & Hafez (2000) referem que os intervalos do pós-parto até à primeira ovulação, primeiro cio e involução uterina são menores nas vacas leiteiras em comparação com vacas de carne, sendo a involução uterina mais rápida nas vacas primíparas e nas que se encontram a amamentar vitelos. O processo normal de involução uterina compreende várias etapas (Senger, 2005) (Figura 7):



– Contração do miométrio e redução do tamanho e volume uterinos

Logo após o parto, o miométrio sofre fortes e sucessivas contrações que promovem a eliminação de fluidos e restos de tecido do útero, comprimem a vasculatura uterina, diminuindo o risco de hemorragia e contribuindo para a redução do tamanho total do útero (Senger, 2005). As contrações prolongam-se durante 48h após o parto, ocorrendo expulsão da placenta e da maioria do líquido uterino (lóquia) durante este período. As contrações são induzidas pela libertação de prostaglandinas após o parto, sendo mais prolongada em espécies com placenta cotiledonar (ex: vaca) (Hafez & Hafez, 2000). Segundo Senger (2005), o momento em que as contrações terminam varia consoante o animal observando-se, contudo, uma redução significativa do tamanho uterino durante os primeiros dias após o parto em todas as vacas. Assim, no período imediatamente após o parto, o útero sofre uma atrofia rápida e coordenada, o seu tamanho e peso diminuem e o tônus muscular aumenta de forma gradual (Senger, 2005).

– Lóquia

Imediatamente após o parto, há eliminação de um corrimento sanguinolento através da vulva, designado por lóquia. Este corrimento, considerado fisiológico no pós-parto, é formado por muco, descamação do tecido placentar e sangue. Inicia-se, geralmente ao 2º dia após o parto e persiste até ao 10º dia ou 2 semanas pós-parto (Lewis, 1997; Senger, 2005; Sheldon *et al.*, 2008; Divers & Peek, 2008). Segundo Divers & Peek (2008), são eliminados vários litros de lóquia nas primeiras 48h após o parto, diminuindo progressivamente nos dias seguintes para cerca de 100 ml nas primíparas a 1L ou mais nas múltíparas.

O sangue contido na lóquia confere, com frequência, uma coloração “vermelha ou laranja”, sendo mais abundante por volta do 9º - 10º dia pós-parto, coincidindo com a descamação das carúnculas maternas e exposição da superfície vascular (Call, 1989; Divers & Peek, 2008). No entanto, a coloração da lóquia é muito variável, desde vermelho escuro ou castanho a branco, não constituindo um sinal patológico e clínico fiável.

A lóquia deve ser considerada patológica caso apresente cheiro fétido, persistir para além dos 30 dias pós-parto ou se o animal desenvolver outros sinais clínicos de doença. Nestes casos, deve ser realizada uma nova avaliação clínica que pode revelar um atraso da involução uterina (Lewis, 1997; Senger, 2005).

– Necrose, descamação e reparação das carúnculas, com crescimento do epitélio de superfície

Após a separação dos cotilédones fetais das carúnculas maternas, que ocorre por volta das 8-12h após o parto, as carúnculas sofrem vasoconstrição e posteriormente descamação ao 5º dia, permitindo o restabelecimento de uma nova camada epitelial (Senger, 2005). A regeneração do endométrio ocorre de forma centrípeta, das zonas inter-carunculares para as carúnculas e termina por volta dos 25 dias pós-parto, enquanto que a regeneração das camadas mais profundas apenas fica completa às 6-8 semanas (Sheldon *et al.*, 2008). Portanto, a regeneração do endométrio é mais prolongada em espécies com placenta cotiledonar. A recuperação da integridade endometrial torna-se evidente por volta das 2 semanas pós-parto, altura em que a lóquia eliminada passa de sanguinolenta a amarelada e de aspecto purulenta, sendo frequentemente confundida com infecções uterinas.

A realização da palpação retal por volta das 3 semanas pós-parto, permite detectar o corno anteriormente gravídico e qualquer atividade ovárica. Na vaca normal, o útero estará vazio, sem fluidos acumulados, e com tamanho em regressão. O peso e tamanho uterinos tornam-se estáticos por volta dos 40 dias, não ocorrendo alterações perceptíveis após este período (Call, 1989). O corno uterino previamente gravídico, no entanto, nunca retorna ao seu tamanho original. Comparativamente ao útero, a involução do cérvix é mais lenta, constituindo a última parte do trato reprodutivo a regredir completamente.

– Contaminação bacteriana uterina

A contaminação bacteriana do útero no pós-parto é comum na maioria dos animais, sendo considerado uma sequela inevitável do parto uma vez que ocorre, habitualmente, em ambientes não-estéreis e com comprometimento da esterilidade uterina (Hafez & Hafez, 2000; Senger, 2005). Devido à dilatação do cérvix e à presença de corrimentos no pós-parto (lóquia), o ambiente uterino torna-se favorável ao crescimento de uma vasta variedade de bactérias, tanto aeróbicas como anaeróbicas. As bactérias mais comumente isoladas são o *Arcanobacterium pyogenes*, *E.coli*, *Fusobacterium necrophorum*, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.* e *Prevotella melaninogenicus* (Hafez & Hafez, 2000; Senger, 2005; Scott *et al.*, 2011).

Os eventos do pós-parto, juntamente com vários mecanismos de defesa do útero, facilitam a eliminação desta flora bacteriana indesejável (Senger, 2005):

- As contrações do miométrio permitem a eliminação de grande parte das lóquias.
- O retorno à ciclicidade (estro) é o fator natural mais importante, com o aumento das concentrações de estradiol, que favorece a migração de leucócitos para o trato reprodutivo. Segundo Hafez & Hafez (2000) a secreção ovárica de estrogénio antes da primeira ovulação promove uma maior resistência uterina a infecções, possibilitando o retorno precoce à atividade reprodutiva.

Apesar destes mecanismos de defesa, o crescimento bacteriano pode persistir sem, no entanto, implicar a existência de um processo patológico. Apenas nos casos de sobrecarga bacteriana ou falha nos mecanismos de defesa, se verifica o desenvolvimento de infecção uterina pós-parto, com desenvolvimento de vários graus de metrite. Existem diversas condições que predis põem ao desenvolvimento de infecções no uterinas no pós-parto, nomeadamente a presença de distócia, retenção placentária, atraso na expulsão da lóquia e hipocalcémia (Senger, 2005; Scott *et al.*, 2011).

A incapacidade em eliminar a contaminação bacteriana, independentemente da sua causa, apresenta várias consequências como o atraso da involução uterina, prolongamento do puerpério e adiamento de futuras gestações (Senger, 2005). Assim, o tempo necessário para a completa eliminação da contaminação bacteriana do lúmen uterino depende da carga bacteriana, da existência de retenção placentária e da concentração de estrogénio (Hafez & Hafez, 2000; Senger, 2005).

Resumindo, a taxa de involução do útero depende de vários factores, nomeadamente (Hafez & Hafez, 2000):

- Contrações do miométrio, mediadas pela libertação de ocitocina e prostaglandinas após o parto, que promovem a eliminação da lóquia e a diminuição do tamanho do útero;
- Regeneração do epitélio endométrial;
- Migração de leucócitos para o lúmen uterino, promovendo a eliminação dos principais patogéneos;
- Eliminação da contaminação bacteriana.

2.2.6. Reinício da atividade ovárica

A vaca leiteira, sendo um animal poliétrico, possui um ciclo éstrico contínuo, apenas interrompido pela gravidez. No pós-parto e antes do reinício do ciclo reprodutivo, ocorre um período de inatividade ovárica e quiescência sexual (Ball & Peters, 2004).

O restabelecimento no pós-parto do ciclo ovárico é um importante componente do intervalo entre partos, sendo a duração do período de inatividade variável e influenciada por diversos factores, como o estado nutricional do animal, a produção leiteira, época do ano, entre outros.

O ciclo ovárico divide-se em duas fases: Folicular (Pró-estro e Estro) e fase Lútea (Metaestro e Diestro) (Ball & Peters, 2004). De seguida apresentam-se as principais hormonas com papel no restabelecimento da actividade ovárica no pos-parto.

– Papel da PGF2-alfa no pós-parto

Durante a gravidez, o corpo lúteo produz elevadas concentrações plasmáticas de progesterona (P4), que exerce um efeito imunossupressor sobre o útero, essencial à manutenção da gestação. No entanto, após o parto, as principais hormonas envolvidas no mecanismo de defesa hormonal e prevenção de infecções uterinas são o estrogénio e a PGF2-alfa.

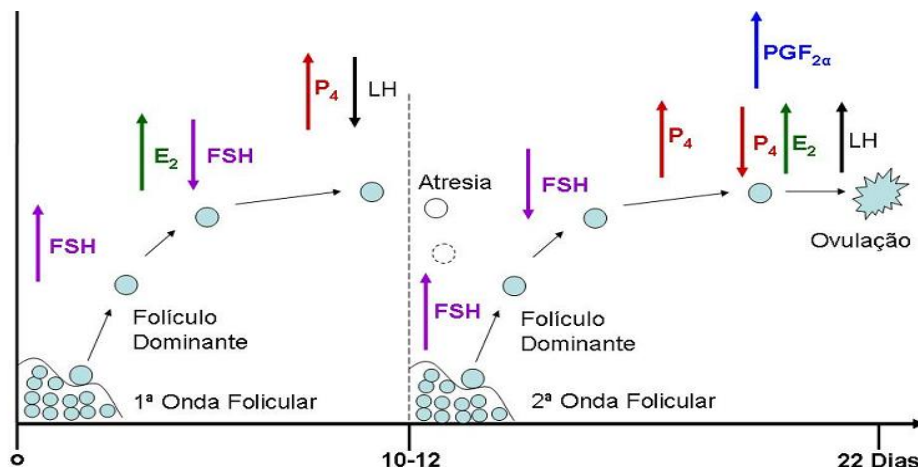
No pós-parto, a PGF2-alfa é secretada pelo endométrio em resposta à ocitocina e às elevadas concentrações de estrogénio (Horta, 1989; Hafez & Hafez, 2000; Fernandes *et al.*, 2003). Esta hormona, principal responsável pela luteólise, medeia a regressão funcional e morfológica do corpo lúteo por mecanismos ainda não completamente esclarecidos mas que envolvem a diminuição do suprimento sanguíneo por vasoconstrição, e a ação direta sobre células luteínicas (Horta, 1989). Devido à regressão do corpo lúteo, as concentrações sanguíneas de P4 diminuem progressivamente até valores inferiores a 1ng/ml, deixando de inibir a libertação hipotalâmica de GnRH e promovendo a libertação das gonadotropinas FSH e LH. Esta alteração hormonal desencadeia o crescimento folicular e a secreção de estrogénio, principal responsável pelo comportamento de cio nas vacas (Horta, 1989). Portanto, para o início do período fértil no pós-parto é essencial que ocorra a regressão do corpo lúteo, mediada pela PGF2-alfa.

A PGF2-alfa apresenta ainda outra ação sobre o útero, nomeadamente na indução da contractilidade uterina, durante o parto e durante o ciclo éstrico, ao promover o influxo celular de cálcio. Este efeito uterotónico, favorece a eliminação da contaminação bacteriana e acelera a involução uterina, diminuindo o intervalo parto-1º estro, o número de serviços por concepção, o período de serviços e o intervalo entre partos (Fernandes, Oliveira, & Vasconcelos, 2003).

- Início da fase folicular

O aumento da concentração plasmática da hormona folículo-estimulante (FSH) é sucedido pelo aparecimento de vários folículos (4-6 mm de diâmetro) com posterior seleção de um único folículo dominante aos 10-12 dias após o parto (Sheldon *et al.*, 2002; Ball & Peters, 2004; Sheldon *et al.*, 2008) (Figura 8).

Figura 8 – Variação hormonal no pós-parto (imagem adaptada de Marsiglio, 2009)



A seleção pós-parto dos primeiros folículos dominantes é feita, preferencialmente, no ovário contralateral ao corno uterino anteriormente gravídico. A supressão da formação de folículos no ovário ipsilateral diminui à medida que o intervalo pós-parto progride, juntamente com a lise do corpo lúteo, involução uterina e eliminação da contaminação bacteriana do útero após o parto (Sheldon *et al.*, 2002).

Em vacas saudáveis, a primeira ovulação pós-parto ocorre por volta dos 15 dias, sendo que a maioria não apresenta sinais aparentes de comportamento éstrico (cio silencioso). No entanto, a incidência destes cios silenciosos diminui à medida que a detecção clínica de estro vai melhorando (Hafez & Hafez, 2000; Divers & Peek, 2008). A segunda ovulação ocorre entre os 32-33 dias após o parto e as seguintes em ciclos regulares de 21 dias (Divers & Peek, 2008).

Segundo Sheldon *et al.* (2008), para que seja estabelecida uma gestação bem sucedida é importante a existência de um folículo saudável na altura da ovulação. Existe, portanto, uma estreita relação entre o ovário e o comportamento, garantindo que a fêmea esteja sexualmente receptiva durante o período fértil, altura em que ocorre a ovulação (Ball & Peters, 2004).

O crescimento folicular, a sua função e a do corpo lúteo podem ser perturbadas pelo desenvolvimento de uma infecção uterina (Sheldon *et al.*, 2002). Sheldon *et al.* (2008) refere

que em vacas que apresentam patologia uterina, os folículos são mais pequenos e as concentrações plasmáticas periféricas de estradiol mais baixas, não afectando, no entanto, a concentração plasmática de FSH e o aparecimento da onda folicular.

2.3. Doenças reprodutivas

2.3.1. Retenção da placenta

A retenção da placenta (RP), que consiste na expulsão incompleta das membranas fetais, é uma patologia frequente das vacas leiteiras (Divers & Peek, 2008). É provocada pela falha da separação entre os cotilédones (vilosidades da placenta fetal) e as carúnculas (criptas maternas). Apesar da sua etiologia não ser ainda bem compreendida, pensa-se que seja multifactorial (Peligrino *et al.*, 2008; Angrimani *et al.*, 2011). A expulsão destas membranas deve ocorrer entre as 8 e as 12 horas após o parto eutócico, considerando-se que ocorreu retenção da placenta quando o período necessário para a sua expulsão ultrapassa as 12 horas pós-parto (Divers & Peek, 2008; Bulling *et al.*, 2011). Dependendo da definição utilizada, a incidência de RP varia entre os 3 e os 10% (Scott *et al.*, 2011).

2.3.1.1. Etiologia

A causa para que algumas vacas não completem o processo de expulsão da placenta após o parto não é, ainda, totalmente conhecida (Kimura *et al.*, 2002). Existem, contudo algumas teorias publicadas que tentam justificar a sua ocorrência (Angrimani *et al.*, 2011). Segundo Kimura *et al.* (2002), para que a placenta seja expulsa, é necessário que o componente fetal seja identificado como um “tecido estranho” ao organismo e rejeitado pelo sistema imune materno. Assim, apesar da ausência de consenso sobre os factores etiológicos envolvidos na RP, muitos autores consideram que existem dois processos essenciais necessários para a sua ocorrência: a separação anormal das vilosidades cotiledonares fetais das carúnculas maternas e a inércia uterina primária (Scott *et al.*, 2011).

- Fatores predisponentes

O processo de separação das membranas fetais é influenciado por diversos factores:

- **Duração da gestação:**

A incidência de RP aumenta com o tempo de gestação, sendo que gestações para além dos 290 dias estão relacionadas com uma incidência de 40,7%, estando relacionada com o crescimento excessivo das carúnculas maternas (Horta, 2000; Akar, 2005; Peligrino *et al.*, 2008; Angrimani *et al.*, 2011).

Em partos prematuros, gemelares ou distócicos também ocorre um aumento da incidência de RP, relacionado com a prematuridade e maturação incompleta dos placentomas. Nos partos gemelares a incidência pode mesmo ser entre duas a sete vezes superior (Akar, 2005; Divers & Peek, 2008; Andrews *et al.*, 2008; Angrimani *et al.*, 2011).

- **Doenças infecciosas**

Infeções uterinas durante ou imediatamente após o parto podem levar à RP, devido ao processo inflamatório associado e à formação de aderências entre as membranas maternas e fetais que dificultam a sua separação (Akar, 2005; Andrews *et al.*, 2008; Bulling *et al.*, 2011).

- **Raça e sexo**

Verifica-se uma maior incidência de RP na vaca leiteira comparativamente a outras raças e em gestações com fetos do sexo masculino (Horta, 2000; Peligrino *et al.*, 2008).

- **Factores genéticos**

Existe maior susceptibilidade em determinados animais e na sua descendência (Horta, 2000).

- **Idade**

Existe um pico de incidência de RP entre os 5 e 7 anos de idade, atingindo cerca de 72% e estando relacionado com o número de partos. Nas vacas primíparas atinge cerca de 3,5% e em múltiparas com pelo menos 9 partos cerca de 24,4% (Horta, 2000; Angrimani *et al.*, 2011).

- **Estado nutricional**

A incidência de RP aumenta em casos de hiperqueratose por deficiência de vitamina A e em casos de alteração do metabolismo cálcio-fósforo (Horta, 2000; Akar, 2005). A vitamina E e o selénio contribuem para este aumento, estando envolvidos na regulação da função dos

neutrófilos, que medeiam a resposta imunológica responsável pela expulsão da placenta e controlo de infecções no peri-parto (Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011).

- Fatores causais

Para além das situações que predisõem à RP, existem processos que estão diretamente envolvidos na sua patologia:

- **Alterações a nível dos placentomas**

Constituem a principal causa de RP, sendo responsáveis por cerca de 98% dos casos.

A separação dos placentomas pode ser comprometida pela proliferação anormal de células epiteliais, quer nas criptas quer nas vilosidades, que penetram no tecido subepitelial das carúnculas encarcerando os tecidos maternos e os tecidos fetais (Horta, 2000; Oliveira, 2008; Angrimani *et al.*, 2011). Num parto eutócico sem RP, verifica-se um número significativamente reduzido do número de células epiteliais por cripta, logo a partir do 8º mês de gestação. Pelo contrário, em casos com RP, o número de células epiteliais mantém-se constante, não diminuindo acentuadamente nas 12 horas prévias ao parto, processo essencial à separação normal da placenta (Horta, 2000).

Em situações de retenção placentária ocorrem ainda, alterações imunológicas a nível dos placentomas, como a alteração da função neutrofílica, a diminuição da capacidade quimiotáctica e fagocítica dos leucócitos e um reduzido número de linfócitos T e B (Horta, 2000; Kimura *et al.*, 2002; Oliveira, 2008; Angrimani *et al.*, 2011). A metabolização do colagénio III também se encontra alterada em casos de RP, não se verificando a sua redução gradual no final da gestação, comprometendo a expulsão das membranas fetais (Horta, 2000; Oliveira, 2008; Angrimani *et al.*, 2011).

A ocorrência de trauma durante o parto, por distócia, cesariana ou placentite, condiciona alterações da microcirculação da placenta com hiperémia dos placentomas, edema das vilosidades e hemorragia entre estas e as criptas, dificultando a separação da placenta. Estas alterações da microcirculação condicionam um aumento da pressão sanguínea nas vilosidades e o encarceramento nas criptas uterinas devido ao colapso precoce dos grandes vasos umbilicais (Horta, 2000; Scott *et al.*, 2011).

– **Alterações da atividade do miométrio**

Em 98% dos casos a presença de RP não se relaciona com a existência de atonia uterina (Horta, 2000). A ausência de contrações uterinas pode ocorrer devido à distensão excessiva do miométrio, como em casos de hidrópsia alantoide; ou a um trabalho de parto prolongado, como em partos gemelares, fetos muito grandes ou em vacas hipocalcémicas (Andrews *et al.*, 2008). Contudo, a presença de atonia uterina na ausência de outras alterações do processo de separação das membranas, não é suficiente, por si só, para provocar RP.

– **Perturbações metabólicas** (Andrews *et al.*, 2008; Angrimani *et al.*, 2011)

A presença de hipocalcémia contribui para a ocorrência de distócia, estando indirectamente envolvida no desenvolvimento de RP.

– **Perturbações Hormonais**

As concentrações de estrogénio e progesterona estão envolvidas no processo de retenção placentária. Para a normal expulsão da placenta é necessário que, nas últimas semanas antes do parto, ocorra uma diminuição progressiva da concentração de progesterona e um aumento gradual da concentração de estradiol. Contudo, em vacas com RP, verifica-se a manutenção de concentrações elevadas de progesterona e concentrações reduzidas de estrogénio, no período peri-parto (Horta 2000).

2.3.1.2. Apresentação clínica

Na maioria dos casos, a RP é clinicamente evidente e de fácil diagnóstico, uma vez que se observa uma placenta pendular não totalmente extraível, às 12 horas após o parto (Figura 9). No entanto, em alguns casos este quadro pode não ser imediatamente reconhecido, se a placenta se encontrar retida dentro do útero ou entre o cérvix e a vagina, sendo necessário uma avaliação vaginal para a detectar.

O quadro clínico de RP varia de forma significativa com o desenvolvimento de doenças secundárias, sendo a metrite a patologia que mais frequentemente se encontra associada.

A maioria dos animais afectados não apresenta compromisso do seu estado geral, observando-se apenas uma diminuição transitória do apetite, da produção leiteira e da temperatura corporal, não constituindo sinais de gravidade. Existe, no entanto, um risco acrescido para o desenvolvimento de doenças uterinas (Divers & Peek, 2008).

Figura 9 – Exemplo de vaca com retenção placentária (fotografia original).



Os sinais clínicos mais específicos desta patologia são:

- Placenta suspensa através do trato genital, pendente na vulva;
- Corrimento fétido, característico de um processo de metrite associado.

O tenesmo, um sinal clínico frequente, é provocado pela constante tensão e irritação induzida pela placenta no trato reprodutivo caudal.

De acordo com Horta (2000), Bulling *et al.* (2011) e Angrimani *et al.* (2011), o quadro clínico da RP na ausência de terapêutica evolui geralmente da seguinte forma:

- As membranas fetais não são expulsas de forma completa;
- Início de cólicas ligeiras, progressivamente mais intensas e recorrentes, na tentativa de expulsão das membranas fetais;
- A partir do 3-5º dia após o parto, ocorre putrefacção das membranas retidas, associando-se a um corrimento vulvar amarelo-acinzentado e fétido;
- Desenvolvimento de metrite séptica, inicialmente assintomática mas com anorexia, depressão, diminuição da produção leiteira (hipogalaxia) e hipertermia graduais;
- Atonia uterina se a retenção ultrapassar os 10 dias após o parto;
- Septicémia, tetania e morte nos casos mais graves;
- Em casos de metrite e na ausência de morte do animal, esta pode evoluir de forma crónica.

2.3.1.3. Consequências futuras

Em casos graves de RP, associados a complicações clínicas, podem ocorrer sequelas com importantes implicações futuras, a nível reprodutivo e económico.

Economicamente, ocorre diminuição da produção leiteira, perda de qualidade do leite e refugo precoce. A nível reprodutivo pode verificar-se (Horta, 2000; Ball & Peters, 2004; Angrimani *et al.*, 2011):

- Aumento da prevalência de infecções do aparelho reprodutivo como metrite, endometrite crónica, piómetra, salpingite, ooforite, e metrite séptica aguda;
- Diminuição da atividade reprodutiva pelo atraso na involução uterina e reinício da atividade ovulatória;
- Aumento do número de inseminações devido à diminuição da taxa de concepção;
- Prolongamento do intervalo parto-concepção e entre-partos.

No entanto, e segundo Leblanc (2007), o impacto na performance reprodutiva pode apenas ocorrer em situações com desenvolvimento de metrite e endometrite após a RP.

Clinicamente, vacas com RP apresentam maior susceptibilidade para desenvolverem novamente esta patologia mais tarde, assim como uma maior predisposição para outras doenças como laminite, deslocamento do abomaso à esquerda e infecções ascendentes do trato urinário (Divers & Peek, 2008; Bulling *et al.*, 2011).

2.3.2. Infecções Uterinas no pós-parto

No período pós-parto, verifica-se, de forma inevitável, uma contaminação bacteriana do lúmen uterino que persiste até às duas primeiras semanas, podendo comprometer a função uterina (Chapwanya, 2004; Divers & Peek, 2008; Dubuc, 2011). Na maioria das vacas, esta contaminação bacteriana é resolvida durante as primeiras cinco semanas pós-parto, persistindo, contudo, em cerca de 10-17% dos casos (Sheldon *et al.*, 2006; Sheldon, *et al.*, 2009; Dubuc, 2011).

A infecção uterina no pós-parto atinge mais frequentemente as vacas leiteiras em comparação com as vacas de carne. Este facto pode ser explicado devido às maiores exigências metabólicas a que as vacas leiteiras estão sujeitas, que condicionam um balanço energético negativo e elevadas concentrações plasmáticas de corpos cetónicos, estado de imunossupressão transitório e desenvolvimento de hipocalcémia, com maior incidência de distócia (Drillich, 2006; Mazurek *et al.*, 2009; Sheldon *et al.*, 2009). Assim, a prevalência e a gravidade da doença clínica depende de um balanço entre diversos factores, como a dieta, o

estado sanitário do animal, a imunocompetência, a espécie e a patogenicidade da bactéria em causa (Sheldon *et al.*, 2008).

Outrora, as vacas altas produtoras de leite eram bastante eficazes no combate a estas contaminações puerperais. No entanto ao longo do tempo, estes animais têm vindo a apresentar um aumento na incidência total das doenças uterinas no período pós-parto, como retenção da placenta e metrite aguda (Opsomer & Kruif, 2009; Galvão, 2012).

A infecção uterina pode ser classificada de acordo com a histórica clínica, exame físico e palpação retal em endometrite, metrite e piómetra (Mazurek *et al.*, 2009). Segundo Chapwanya (2004), as infecções uterinas pós-parto podem ser divididas em 5 fases sequenciais (**Figura 10**):

- Metrite puerperal (nos primeiros 10 dias pós-parto)
- Metrite Clínica (entre os 11 e 21 dias pós-parto);
- Endometrite Clínica (entre 22 e 30 dias pós-parto);
- Endometrite Subclínica (entre os 31 e os 42 dias pós-parto);
- Piómetra (após os 43 dias pós-parto)

Figura 10 - Classificação e diagnóstico de doenças uterinas das vacas no pós-parto (imagem adaptada de Chapwanya, 2004).

| | Vaca e vitelo | Vaca suja | Visita do veterinário | Vaca doente | Visita do veterinário | Repeat breeder | | |
|-----------------|--|--|--|---|---|----------------|----|----|
| Exame clínico | <ul style="list-style-type: none">• Diarreia aquosa, fétida, vermelha/acastanhada <p>Metrite Puerperal</p> | <ul style="list-style-type: none">• Febre• Desidratação• Apatia• Inapetência• Diminuição da produção leiteira <p>Metrite Clínica</p> | <ul style="list-style-type: none">• Vaca aparentemente normal <p>Endometrite Clínica</p> | <ul style="list-style-type: none">• Vaca normal <p>Endometrite Subclínica</p> | <ul style="list-style-type: none">• Vaca normal <p>Piômetra</p> | | | |
| Exame vaginal | <ul style="list-style-type: none">• Corrimento | <ul style="list-style-type: none">• Corrimento | <ul style="list-style-type: none">• Corrimento | <ul style="list-style-type: none">• Normal | <ul style="list-style-type: none">• Normal | | | |
| Palpação rectal | <ul style="list-style-type: none">• Útero aumentado• Líquido no interior do útero | <ul style="list-style-type: none">• Líquido no interior do útero | <ul style="list-style-type: none">• Líquido no interior do útero | <ul style="list-style-type: none">• Líquido no interior do útero | <ul style="list-style-type: none">• Cérvix fechado• Líquido no interior do útero• CL ativo• Útero distendido | | | |
| | 0 | 7 | 14 | 21 | 28 | 35 | 42 | 60 |
| | Dias pós-parto | | | | | | | |

Este faseamento é, no entanto, pouco preciso e com grande variabilidade entre autores talvez porque, mas não só, são utilizados diferentes métodos de diagnóstico. O termo “infecção uterina” é ainda utilizado de forma indiscriminada para referir a existência de contaminação uterina por organismos patogénicos. Assim, em 2006, Sheldon *et al.* propuseram definições padrão, que embora não sejam aplicáveis a todos os casos, permitem classificar as infecções uterinas de forma mais coerente (Lewis, 1997; Sheldon *et al.*, 2008; Opsomer & Kruif, 2009).

2.3.2.1. Etiologia e fisiopatologia

É essencial distinguir entre contaminação e infecção uterina. Para ocorrer infecção é necessário a adesão de microrganismos patogênicos à mucosa, colonização ou penetração do epitélio e libertação de toxinas (Sheldon *et al.*, 2006). A infecção só ocorre na presença de um desequilíbrio entre a imunidade do hospedeiro e a virulência da bactéria, podendo ser influenciado por diversos factores. A infecção uterina na vaca é mais prevalente na presença de retenção da placenta, partos gemelares, distócia e más condições sanitárias do local do parto, alteração da integridade uterina por existência de nados mortos ou abortos de causa infecciosa (*salmonella spp*) e atraso na involução, pois condicionam entre outras, alterações metabólicas como hipocalcémia e cetose (Sheldon *et al.*, 2002; Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011; Galvão, 2012).

A infecção uterina pode apresentar diferentes graus de gravidade, desde moderada provocando apenas atrasos na involução uterina, a grave caracterizada pela presença de hipertermia, diminuição da produção leiteira e da ingestão de alimentos, atrasos na concepção e, em alguns, casos a morte do próprio animal (Mazurek *et al.*, 2009).

A presença de bactérias no útero desencadeia um processo inflamatório no endométrio, com infiltração de células inflamatórias, descamação do epitélio superficial, hiperémia e congestão, aumento do número de neutrófilos e linfócitos. Esta resposta inflamatória juntamente com produtos libertados pelas bactérias, suprimem a secreção de LH e GnRH, perturbam o crescimento folicular e a secreção de estradiol e condicionam um atraso da involução uterina e retorno à atividade ovárica (Herath *et al.*, 2006; Sheldon *et al.*, 2006). A concentração de proteínas séricas de fase aguda aumenta e a função endócrina do hipotálamo, hipófise e ovário são interrompidas (Lewis, 1997; Herath *et al.*, 2006). O exsudado inflamatório resultante da resposta imune favorece a difusão da infecção e pode, em cerca de 70 a 75% dos casos, estender-se até aos oviductos, com lesão permanente destas estruturas (Lewis, 1997). Os microrganismos que atingem o útero podem ser isolados tanto em animais com infecção uterina como em animais saudáveis (Leblanc, 2007; Sheldon *et al.*, 2009; Dubuc, 2011; Galvão, 2012). De todas as bactérias, é o *Arcanobacterium pyogenes* o mais relacionado com o desenvolvimento de infecção uterina, isoladamente ou em associação (Lewis, 1997).

Em suma, na maioria das vacas, as bactérias ambientais e das fezes do próprio animal contaminam o lúmen uterino durante o parto ou período pós-parto. A eliminação destas depende do sistema imune da vaca, da patogenicidade do microrganismo, dos mecanismos de defesa do útero como a involução uterina e a regeneração do endométrio (Sheldon *et al.*, 2006).

O principal sinal clínico da infecção uterina pós-parto é a alteração das características normais do corrimento vaginal, com a presença de pús, refletindo de forma indireta a carga bacteriana no interior do útero (Herath *et al.*, 2006; Mazurek *et al.*, 2009). No entanto, a avaliação das características do corrimento vaginal não é, por si só, suficiente para o diagnóstico de uma infecção uterina, pois encontram-se alteradas na altura do cio e da inseminação (Opsomer & Kruif, 2009).

2.3.2.2. Diagnóstico

O diagnóstico das infecções uterinas deve ser feito no momento e forma adequados de modo a assegurar uma correta abordagem e tratamento (Lewis, 1997).

As técnicas disponíveis para o diagnóstico de infecção uterina em vacas incluem a palpação rectal do útero, o exame vaginal com espéculo (vaginoscopia), a cultura do corrimento vaginal e a recolha de material uterino através de biópsia para exame histopatológico (Lewis, 1997). No entanto, não existe atualmente um método considerado “gold standard” no diagnóstico de infecções uterinas, dificultando a avaliação das definições clínicas utilizadas. Apesar da escassez de informação e correlação entre as observações clínicas e histopatológicas, a avaliação do corrimento vaginal é considerado o método mais fiável no diagnóstico, uma vez que a presença de pús implica a presença de bactérias patogénicas no útero (Lewis, 1997; Sheldon *et al.*, 2006; Giuliadori *et al.*, 2012).

De todas estas técnicas, a palpação rectal é provavelmente o método mais utilizado para o diagnóstico destas doenças, por ser mais rápido e barato, apesar de ter uma baixa especificidade e sensibilidade. Este método permite avaliar o tamanho e consistência do útero e cérvix, assim como a presença de retenção de líquido no lúmen uterino. Ocasionalmente pode conduzir a erros de diagnósticos pois exige um elevado grau de experiência para a sua correta interpretação (Lewis, 1997; Sheldon *et al.*, 2008).

A vaginoscopia é um método simples que permite a remoção de uma amostra de corrimento vaginal para análise e a observação da porção exterior do cérvix. O corrimento recolhido por este método pode ser enviado para cultura com isolamento do agente patológico. Este método, juntamente com o exame bacteriológico do corrimento, permite o diagnóstico de uma infecção uterina de forma mais específica comparativamente com a palpação rectal, sendo contudo ainda pouco utilizada (Lewis, 1997; Drillich, 2006; Sheldon *et al.*, 2008).

A associação da palpação rectal com a realização de uma vaginoscopia, apesar de não confirmar a presença de inflamação uterina, permite uma maior exatidão no diagnóstico de infecção uterina (Lewis, 1997; Sheldon *et al.*, 2008). Tem um baixo custo associado, é rápido

de executar e permite a observação de lacerações vaginais e a caracterização do odor do corrimento vaginal (Drillich, 2006; Sheldon *et al.*, 2006).

2.3.3. Metrite

O termo “metrite” é por vezes utilizado incorretamente para definir infecções do útero no pós-parto, que atingem o endométrio ou as camadas mais profundas, com ou sem clínica associada (Divers & Peek, 2008). No entanto, é importante diferenciar estas infecções uterinas consoante a extensão da inflamação ao longo da parede uterina e a sua gravidade clínica. Assim, na metrite ocorre inflamação de todas as camadas da parede uterina e aumento do tamanho do útero. Na endometrite a inflamação está limitada à superfície do endométrio e o útero apresenta um tamanho próximo do normal (Sheldon *et al.*, 2006; Sheldon *et al.*, 2008).

A metrite ocorre até ao 21º dia após o parto, sendo considerada Tóxica ou Puerperal se ocorrer nos primeiros 10 dias e associada a sinais sistémicos, ou Clínica se ocorrer entre o 11º e o 21º dia e sem envolvimento sistémico (Chapwanya, 2004; Divers & Peek, 2008).

A incidência de metrite é variável, dependendo da definição utilizada, podendo afetar até 20% das vacas leiteiras, sendo que em algumas explorações varia entre os 8 e os 40% (Sheldon *et al.*, 2009; Galvão, 2012).

Segundo Leblanc (2007), Dubuc (2011) e Galvão (2012) os factores associados ao desenvolvimento de metrite são os relacionados com as infecções uterinas em geral, ou seja:

- Existência de lesões uterinas, provocadas por partos distócicos ou gemelares;
- Alteração da integridade uterina devido à presença de nados mortos ou abortos de causa infecciosa (*Salmonella* spp), RP ou atraso na involução;
- Ocorrência de alterações metabólicas, como Febre do Leite (hipocalcémia clínica) ou cetose.

A retenção da placenta é um dos principais factores predisponentes da metrite, sendo que 20 a 25% das vacas com retenção placentária desenvolvem metrite. Ao contribuir para a presença de grandes quantidades de tecido necrosado no útero, para o atraso na sua expulsão e para a diminuição da resposta imunológica, esta patologia proporciona um ambiente ideal para o crescimento bacteriano (Dubuc, 2011).

Outro factor adicional envolvido na predisposição para metrite é a circulação sanguínea de imunoglobulinas, que atuam como opsoninas facilitando a fagocitose. A idade do animal também influencia a incidência de metrite, uma vez que as vacas primíparas apresentam

menor quantidade de imunoglobulinas no colostro e em circulação, sendo mais susceptíveis a desenvolver metrite (Galvão, 2012).

Segundo Lewis (1997) e Scott *et al.* (2011) existe, ainda, um aumento da incidência de RP e metrite em vacas que desenvolvem hipocalcemia durante o parto, principalmente na sua segunda metade.

Assim, os factores de risco associados ao desenvolvimento de metrite podem ser divididos em duas categorias (Dubuc, 2011):

- Os que contribuem para a contaminação bacteriana uterina;
- Os que prejudicam a resposta imunitária.

Os microrganismos patogénicos responsáveis pelo desenvolvimento de metrite são comuns aos das outras infecções uterinas (Sheldon *et al.*, 2006; Leblanc, 2007; Divers & Peek, 2008).

Os animais afectados podem desenvolver metrite de gravidade variável, dependendo do equilíbrio entre estes mecanismos (Scott *et al.*, 2011). O desenvolvimento de metrite provoca um impacto negativo a vários níveis, nomeadamente ao contribuir para um maior risco de desenvolver outras doenças graves como mastite, endometrite clínica ou subclínica, doença ovárica cística e deslocamento do abomaso (Divers & Peek, 2008; Opsomer & Kruif, 2009). Relativamente à produção leiteira, não são conhecidas ao certo as dimensões das perdas que o desenvolvimento de metrite condiciona mas, quanto à reprodução e taxa de refugo, existe evidência da diminuição da performance reprodutiva, aumento da taxa de refugo devido ao maior número de dias abertos e aumento do intervalos entre partos (Chapwanya, 2004; Dubuc, 2011).

2.3.4. Metrite puerperal ou tóxica

Nas situações em que esta patologia ocorre até ao 10º dia pós-parto e associada a sinais sistémicos de toxemia, designa-se por Metrite Tóxica ou metrite pós-parto, puerperal tóxica, puerperal aguda ou metrite séptica, dependendo do autor (Drillich, 2006; Divers & Peek, 2008; Sheldon *et al.*, 2009). A prevalência de metrite puerperal varia entre 25-40% (Sheldon *et al.*, 2008; Sheldon *et al.*, 2009).

2.3.4.1. Etiopatogenia

Na Metrite Tóxica, as bactérias envolvidas produzem toxinas que são absorvidas pelo endométrio lesado, provocando efeitos a nível sistémico, como hipertermia (Scott *et al.*, 2011). Assim, a gravidade da doença está intimamente dependente da carga bacteriana

presente no lúmen uterino e da eficiência dos mecanismos de defesa do animal (Drillich, 2006). Segundo Opsomer & Kruif (2009), a relação causal entre os factores predisponentes não é linear, envolvendo uma etiologia multifactorial entre diversas afecções como RP, distócia, deslocamento do abomaso para a esquerda e cetose, entre outras (Lewis, 1997; Divers & Peek, 2008; Scott *et al.* 2011).

2.3.4.2. Apresentação clínica

Clinicamente, na metrite tóxica ocorre alteração do estado geral do animal, com prostração, diminuição da ingestão de alimentos e da produção de leite, geralmente reduzida para um terço do esperado. Animais gravemente doentes podem permanecer em decúbito e apresentar alterações metabólicas (Sheldon *et al.*, 2006; Leblanc, 2007; Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011). Verificam-se sinais de toxémia como taquicardia, estase ruminal, desidratação e diarreia fétida (Drillich, 2006; Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011). A vaca está geralmente febril, sendo a temperatura rectal frequentemente superior ou igual a 39,5 °C, apesar de um número significativo de animais, mesmo com doença grave, permanecer apirético ou mesmo com temperatura abaixo do normal (Drillich, 2006; Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011).

A Metrite Tóxica é, especificamente, caracterizada por (Sheldon *et al.*, 2006; Leblanc, 2007; Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011):

- Aumento do tamanho uterino;
- Corrimento uterino fétido, purulento, podendo acumular-se em grandes quantidades (5 a 10 litros) no interior do útero.

Este corrimento pode ser observado na vulva e manchar a cauda e, nos casos em que não é imediatamente visível, é necessário realizar um exame vaginal para o detectar. O corrimento é purulento e de cor variável, castanho a cinzento ou vermelho, e com cheiro extremamente fétido (Figura 11) (Divers & Peek, 2008).

Figura 11 – Corrimento vulvar purulento, característico de metrite (fotografia original).



A manifestação mais grave de metrite consiste na perimetrite, uma complicação rara mas potencialmente fatal, que ocorre frequentemente devido a distócia. Implica um processo inflamatório envolvendo todo o útero e ainda a sua superfície peritoneal, estando associada a complicações pélvicas e peritoneais (Divers & Peek, 2008).

2.3.4.3. Diagnósticos diferenciais

Segundo Scott *et al.* (2011), em vacas recém-paridas ou com inapetência é indispensável considerar no diagnóstico diferencial de metrite tóxica:

- Mastite Tóxica;
- Salmonelose;
- Acidose;
- Peritonite;
- Hipocalcémia;
- Síndrome do Fígado Gordo;
- Deslocamento ou Torção do abomaso;
- Rotura uterina;
- Retenção de segundo feto, em gestações gemelares.

2.3.4.4. Diagnóstico

O diagnóstico de Metrite Tóxica baseia-se essencialmente na história clínica, no exame físico e na exclusão de outras doenças comuns no período puerperal (Sheldon *et al.*, 2006; Divers & Peek, 2008; Sheldon *et al.*, 2009; Scott *et al.*, 2011).

O exame vaginal revela um corrimento vermelho-acastanhado fétido, em grandes quantidades (Scott *et al.*, 2011). A palpação rectal permite reconhecer um útero de tamanho superior ao normal, distendido devido à acumulação de corrimento, hipotónico e não involuído completamente. Ainda durante o exame rectal, a massagem suave do corpo uterino, cérvix e vagina provoca a expulsão adicional de corrimento através da vulva (Drillich, 2006; Divers & Peek, 2008). Segundo Divers & Peek (2008) é, frequentemente, possível detectar fisómetra, ou seja, presença de gás no interior do útero, cuja existência pode provocar a distensão de um dos cornos uterinos, podendo ser confundido com outras vísceras (ex: ceco distendido).

O diagnóstico de metrite tóxica pode ser otimizado pela realização diária de um exame físico sistemático durante as primeiras duas semanas após o parto, principalmente em vacas com RP, que devem ser vigiadas até à expulsão da placenta (Leblanc, 2007; Dubuc, 2011).

2.3.5. Metrite clínica

A metrite clínica ocorre entre os 11 e 21 dias pós parto, com um quadro clínico semelhante à metrite tóxica excepto pela ausência de sinais sistémicos (Divers & Peek, 2008).

O primeiro mês pós-parto consiste num momento crítico para as vacas leiteiras, pois o influxo uterino de microrganismos patogénicos durante o parto promove a infecção uterina, comprometendo a sua função, perturbando a fertilidade posterior e reduzindo a rentabilidade das explorações leiteiras (Chapwanya, 2004; Sheldon *et al.*, 2006).

2.3.6. Endometrite

Endometrite consiste numa inflamação localizada do endométrio após os 21 dias pós-parto, não estando associada a sinais sistémicos (Leblanc, 2007; Divers & Peek, 2008; Sheldon *et al.*, 2009; Dubuc, 2011).

A incidência de endometrite clínica depende invariavelmente da existência de metrite tóxica. Segundo Opsomer & Kruif, (2009), cerca de 40% das vacas desenvolvem metrite nas primeiras duas semanas pós-parto, sendo que em 10 a 15% destas a infecção persiste para além das três semanas, evoluindo para endometrite. A incidência de endometrite clínica, baseada na presença de um corrimento vaginal mucopurulento, apresenta muita variabilidade entre autores: desde 7,5 – 8,9% (Divers & Peek, 2008) a 10 - 40% (Scott *et al.* 2011). Relativamente à prevalência de endometrite clínica em vacas leiteiras, esta pode variar entre 5 a 30% (Dubuc, 2011; Galvão, 2012).

O desenvolvimento de endometrite clínica parece correlacionar-se com o nível de produção de leite, uma vez que a produção leiteira apresenta um efeito negativo sobre a função leucocitária (Galvão, 2012). Vacas múltiparas, porque possuem maiores exigências na produção de leite, apresentam um estado de maior imunossupressão, sendo menos eficazes em combater a contaminação uterina bacteriana, e estando mais susceptíveis a desenvolver endometrite (Divers & Peek, 2008).

2.3.6.1. Etiologia

A endometrite tem, tal como as restantes infecções uterinas do pós parto, uma etiologia multifactorial cujo diagnóstico, tratamento e prevenção constituem um importante desafio clínico.

Na maioria dos casos, a endometrite é provocada por microrganismos comensais, ou seja da flora vaginal normal, que ascendem até ao trato genital superior (Chapwanya, 2004; Rodrigues *et al.*, 2008; Scott *et al.*, 2011). As bactérias isoladas com mais frequência são

idênticas às outras infecções uterinas, sendo que na endometrite pode ainda ser isolado a *Chlamydomphila spp.* (Chapwanya, 2004; Sheldon *et al.*, 2006; Drillich 2006).

2.3.6.2. Apresentação clínica

A endometrite pode ser clínica ou subclínica. Na forma subclínica, estão ausentes sinais clínicos, como a presença de corrimento vaginal purulento, sendo frequentemente diagnosticada apenas por exame citológico, analisando a proporção de neutrófilos. A endometrite clínica é caracterizada pela presença de um corrimento vaginal purulento detectável após os 21 dias do parto ou, por um corrimento vaginal mucopurulento se for depois dos 26 dias pós-parto (Chapwanya, 2004; Sheldon *et al.*, 2006; Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011) (Figura 12). A endometrite, comparativamente à metrite, não está associada a doença sistêmica. A vaca encontra-se saudável à exceção da presença de corrimento vaginal purulento (Drillich, 2006; Scott *et al.*, 2011).

Figura 12 – Corrimento mucopurulento recolhido aos 26-32 dias pós-parto e com auxílio de Metricheck, compatível com endometrite (fotografia original).



À palpação rectal identifica-se um útero assimétrico e de paredes espessadas, e um cérvix com um diâmetro superior a 7,5 cm (Drillich, 2006; Sheldon *et al.*, 2006).

Atualmente não existe uma classificação clínica da gravidade de endometrite. Contudo, alguns autores propõem sugestões para facilitar a sua abordagem clínica (Drillich, 2006):

- Presença de corrimento turvo composto por muco transparente com flocos de pus, na ausência de um útero aumentado, constitui um sinal de endometrite moderada;
- Um útero e cérvix de tamanhos superiores ao normal, com retenção de líquido e presença de corrimento purulento, constitui um sinal de endometrite grave.

2.3.6.3. Diagnósticos diferenciais

No diagnóstico diferencial de endometrite é necessário considerar outras doenças que cursam com quadros clínicos semelhantes (Scott *et al.*, 2011):

- Pielonefrite, pode manifestar-se pela presença de um corrimento vulvar purulento e perda de peso;
- Vaginite, provocada por trauma durante o parto, que pode apresentar-se por um corrimento vulvar persistente.

Embora a metrite clínica apresente sinais clínicos semelhantes à endometrite, ocorre durante os primeiros 21 dias pós-parto, não sendo por isso considerada no diagnóstico diferencial.

2.3.6.4. Diagnóstico

Segundo Drillich (2006), o diagnóstico deve ser efectuado por volta das 3-4 semanas após o parto, permitindo a resolução espontânea da infecção na maioria dos casos.

O diagnóstico de endometrite clínica pode ser realizado por vários métodos, sendo o considerado como mais adequado ainda motivo de controvérsia. O método de diagnóstico consiste na inspeção da vulva, do períneo e da cauda, juntamente com a palpação rectal do útero e cérvix (Drillich, 2006).

A palpação rectal permite identificar a presença de um ou ambos os cornos uterinos de tamanho superior ao normal, com espessamento focal ou difuso (Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011).

A inspeção da vagina por palpação manual ou observação através de um espéculo, revela a presença de corrimento purulento e um cérvix parcialmente aberto (Drillich, 2006; Sheldon *et al.*, 2006).

Segundo Divers & Peek (2008), o diagnóstico de endometrite realizado através da palpação rectal e da observação do corrimento vaginal, se presente em quantidades adequadas, é presumível e suficiente para justificar o início do tratamento na maioria dos casos.

Existem outros métodos, com maior sensibilidade e especificidade, que podem auxiliar no diagnóstico de endometrite. No entanto, como nenhum permite um diagnóstico rápido em campo, não são utilizados por rotina (Sheldon *et al.*, 2006; Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011):

- Ecografia transrectal, método não invasivo, permite uma medição objectiva dos cornos uterinos e cérvix, e a visualização de líquido anecogénico com pontos hiperecóticos no lúmen uterino, característico de material purulento (Drillich, 2006; Opsomer & Kruif, 2009);

- Biópsia do endométrio e estudo histopatológico, método ideal para o diagnóstico de endometrite, permite obter informações sobre o prognóstico de fertilidade. Contudo, é um método invasivo, dispendioso e demorado, podendo contribuir para atrasos na concepção.

Um método de diagnóstico relativamente recente e muito utilizado, consiste no dispositivo Metrichack, inventado na Nova Zelândia e composto por uma sonda de aço inoxidável com uma taça de borracha semi-esférica na extremidade. A sua utilização permite recuperar o conteúdo vaginal (Sheldon *et al.*, 2006; Dubuc, 2011) (**Figura 13**).

Figura 13 – Dispositivo de Metrichack (imagem retirada de www.quidee.de).



Segundo Dubuc (2011), qualquer umas destas técnicas (vaginoscopia, Metrichack e palpação rectal) permite a avaliação do corrimento vaginal com resultados semelhantes. Contudo, a vaginoscopia e o dispositivo de Metrichack são os métodos mais utilizados, pela rapidez e fiabilidade que apresentam.

2.3.6.5. Consequências

Sendo uma doença bem delimitada, a endometrite não implica perdas diretas na produção leiteira ou na taxa de mortalidade. Contudo leva a perdas económicas importantes pelo seu impacto negativo na performance reprodutiva, sendo que quando não tratada, podem progredir para piómetra que implica consequências muito mais graves (Chapwanya, 2004; Dubuc, 2011).

O impacto da endometrite clínica na performance reprodutiva das vacas é caracterizado pela diminuição no número de serviços e na taxa de concepção, pelo aumento de dias até ao 1º

serviço e do número de dias abertos, implicando o aumento do intervalo entre parto-concepção (Drillich, 2006; Scott *et al.*, 2011; Dubuc, 2011).

Comparativamente com vacas saudáveis, as vacas com endometrite precisam em média cerca de 30 dias adicionais para voltarem a ficar gestantes, contribuindo para o aumento da taxa de refugo (Drillich, 2006; Dubuc, 2011).

2.3.7. Impacto das infecções uterinas

As consequências e o impacto das infecções uterinas no rendimento de uma exploração encontram-se bem descritas e muito debatidas na literatura, representando o grupo de doenças mais dispendiosas na indústria de laticínios (Lewis, 1997; Sheldon *et al.*, 2009). A despesa implicada na abordagem das infecções uterinas divide-se em custos diretos, relacionados com o tratamento, e custos indiretos associados à diminuição da produção leiteira e à infertilidade. De acordo com Lewis, (1997), Opsomer & Kruif (2009) e Sheldon *et al.* (2009) as infecções uterinas, implicam as seguintes alterações:

- Falha na concepção, devido à presença de pús e ativação do sistema imunológico, prejudicando a implantação do embrião;
- Alteração da atividade ovárica;
- Diminuição da produção leiteira e consumo de alimentos;
- Aumento do custo médio por animal;
- Infertilidade permanente devido a alterações sequelares no trato reprodutivo;
- Aumento da taxa de refugo dos animais.

Apesar de a maioria dos animais não desenvolver infecções graves ou sinais clínicos, é necessário uma vigilância estreita pois podem tornar-se “repeat breeders”, ou seja, apresentar uma ciclicidade normal e aparentemente sem sintomas, mas não conseguindo conceber após duas ou mais tentativas de inseminação consecutivas (Opsomer & Kruif, 2009).

A elevada incidência desta patologia nas vacas leiteiras, comparativamente com outros animais de produção, parece sugerir a existência de falhas graves na criação de vacas leiteiras, nomeadamente no sistema de exploração intensivo com criação de vacas altas produtoras, que contribui para o desenvolvimento de doenças metabólicas; ou a existência de uma predisposição específica de algumas raças, genética ou de resposta ao *stress* biológico (Sheldon *et al.*, 2008; Opsomer & Kruif, 2009; Sheldon *et al.*, 2009).

2.3.8. Alteração da atividade ovárica

As vacas, após o parto e antes de recomeçarem um novo ciclo reprodutivo, passam por um período, normal e incerto, de aciclicidade/quiescência sexual (Ball & Peters, 2004).

A duração do período de quiescência/aciclicidade ovárica é variável, mas quando não se verifica a ocorrência de ovulação até ao 50º dia pós-parto é considerado ser um período anormalmente longo (Ball & Peters, 2004). Este fenómeno de aciclicidade ocorre devido á falha de ovulação de um folículo apesar de uma série destes continuar a crescer e a regredir (Ball & Peters, 2004). Assim, pode manifestar-se por um intervalo de tempo demasiado longo até à primeira ovulação após o parto ou por uma falha em re-ovular após o ciclo ter recomeçado, podendo esta última resultar em períodos de atividade de 7-10 dias até algumas semanas (Ball & Peters, 2004).

Como já referido, as vacas apresentam uma contaminação bacteriana pós-parto do lúmen uterino, e esta pode ter um efeito a curto prazo sobre o desenvolvimento folicular e seleção, nomeadamente no ovário ipsilateral ao corno anteriormente gravídico (Ball & Peters, 2004). Este efeito, segundo Sheldon *et al.* (2002), pode ser centralizado, e é mediado pela paragem de secreção de hormona luteinizante (LH), que tem como consequência subsequente a diminuição da taxa de crescimento e de secreção de estradiol dos folículos dominantes após a seleção deste, ou pode ter um efeito direto sobre o ovário.

As interações hormonais responsáveis pelo controlo da função cíclica ovárica normal podem ser perturbadas pelos mediadores inflamatórios (ex: endotoxinas bacterianas) e por mediadores imunes, como citoquinas (Sheldon *et al.*, 2002).

3. Materiais e métodos

3.1. Objetivos

- Determinação da prevalência de hipocalcémia subclínica em vacas no período pós parto numa exploração de grandes dimensões na área do Ribatejo;
- Determinação da correlação entre o desenvolvimento de hipocalcémia subclínica e distócia;
- Determinação da correlação entre o número de lactações e a ocorrência de hipocalcémia subclínica em vacas no período pós parto;
- Avaliação do impacto/implicações da hipocalcémia subclínica no período pós-parto sobre o aparelho reprodutivo de vacas, nomeadamente sobre a incidência de retenção placentária e infecções uterinas, bem como as suas inter-relações;
- Avaliação do impacto da hipocalcémia subclínica na involução uterina.

3.2. Tipo de estudo

Foi efectuado um estudo do tipo descritivo e observacional analítico.

3.3. Amostra

Utilizando o software Microsoft Excel, para determinar o tamanho de uma amostra com base

na estimativa da média populacional, através da formula
$$n = \frac{N.p.q.\left(\frac{Z_x}{2}\right)^2}{p.q.\left(\frac{Z_x}{2}\right)^2 + (N-1).E^2}$$
¹ e para um

intervalo de confiança de 90%, estimou-se uma amostra de 80 vacas, não probabilística e de conveniência, para a determinação da prevalência de hipocalcémia subclínica numa população de 735 vacas.

O tamanho estimado da amostra foi de 80 animais, pois para um intervalo de 95% seriam necessários 224 animais, e este número teria sido inoportável a nível financeiro e para o tempo disponível durante o estágio.

A amostra foi seleccionada com base nos seguintes critérios e tendo em conta os limites orçamentais existentes:

- Critérios de inclusão: Vacas recém-paridas; com 2 ou mais lactações (multíparas). Foram incluídas todas as vacas independentemente da facilidade do parto.
- Critérios de exclusão: Vacas com sinais de hipocalcémia clínica; primíparas.

¹ n = número de indivíduos da amostra; N = tamanho da população; p = proporção amostral que pertence à categoria que se interessa estudar ; q = proporção amostral que não pertence à categoria que se interessa estudar ; $Z_x/2$ = valor crítico; E = margem de erro.

3.4. Recolha de dados

O presente estudo foi realizado entre os meses de Fevereiro e Maio de 2013, numa exploração leiteira de grandes dimensões situada no Ribatejo, Portugal.

Durante a realização do estudo não foi possível controlar, na amostra selecionada, quaisquer mudanças na ração e/ou administrações de medicamentos, como a administração de PGF2-alfa, determinadas pelas necessidades/política da exploração.

O manejo alimentar da exploração consiste em dois tipos de ração, sendo uma própria para as vacas em lactação e outra para as vacas que se encontram no período seco e no pré-parto.

Na construção da base de dados foram considerados: o número de lactações, a data do parto e o seu grau de dificuldade, existência de partos gemelares, a data de recolha da amostra de sangue (12 a 24h após o parto), valor de cálcio ionizado, existência de retenção placentária (12 a 24h após o parto), a administração de medicamentos, morte do animal, produção leiteira, temperatura rectal, tipo de corrimento vaginal (cor e cheiro) (5 a 7 dias pós-parto (dpp)), tipo de corrimento vaginal (cor e cheiro), tamanho do cérvix, simetria dos cornos uterinos, posição e tamanho do útero e diagnóstico de patologia uterina (5-7 dpp, 11-21 dpp, 22-28 dpp, 26-32dpp) e avaliação da atividade ovárica (19-25dpp) (Anexo 2).

O material utilizado durante o estudo consistiu em tubos simples a vácuo para a recolha de sangue (Figura 14), dispositivo Metrichick (Figura 15) para a recolha de corrimento vaginal, ecógrafo para avaliação dos ovários e o software Alpro como recurso informático para a avaliação do número de lactações e a produção leiteira.

Figura 14 – Tubos simples a vácuo para recolha de sangue (fotografia original).



Figura 15 – Dispositivo Metrichick (fotografia original).



3.5. Colheita das amostras

As amostras de sangue foram colhidas mediante punção da veia coccígea, com agulha descartável acoplada a tubos simples a vácuo. As amostras foram mantidas em refrigeração até à chegada do transporte e até ao seu processamento pelo laboratório.

A determinação do cálcio ionizado foi realizada segundo o método de Potenciometria, com uma margem de erro 1%, no laboratório DNATech. Ballantine & Herbein (1991) concluíram que o método de análise de cálcio (total e ionizado) por Potenciometria era útil para determinar, de forma rápida, a extensão de hipocalcémia em vacas após o parto. Este método é, ainda, considerado pela *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* como o método de referência para a determinação do cálcio ionizado (Ganguly, 2011).

As amostras de sangue foram recolhidas entre as 12 e 24h após o parto, conforme recomendações de Divers & Peek (2008) e Nogueira (2010), uma vez que os mecanismos de mobilização de cálcio da vaca não são imediatamente eficazes (demoram um a dois dias), podendo ocorrer diminuição dos níveis sanguíneos de cálcio e desenvolvimento de hipocalcémia momentânea logo após o parto.

Procedeu-se à determinação do valor de cálcio ionizado em detrimento do valor de cálcio total, uma vez que, por não estar ligado a proteínas, representa a forma biologicamente ativa e a mais rapidamente transferida para os tecidos, permitindo estimar a quantidade disponível para a absorção e utilização pelos tecidos (Ballantine & Herbein, 1991; Sarwar *et al.*, 2000; Kincaid, 2008). Outra vantagem em se determinar o cálcio ionizado consiste na sua menor variabilidade quando comparado com o cálcio total plasmático (Kincaid, 2008).

Considerou-se que uma vaca apresentava hipocalcémia subclínica quando os valores sanguíneos de cálcio ionizado se encontravam abaixo de 1 mmol/L ou 4 mg/dL.

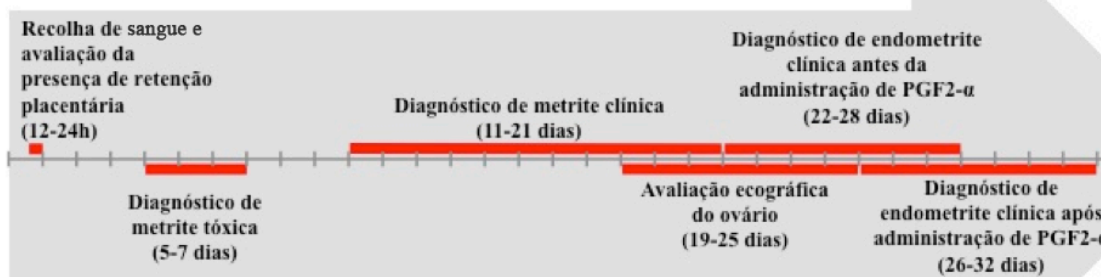
3.6. Avaliação clínica

Durante o estudo efetuou-se a avaliação clínica dos animais da amostra, acompanhando a involução uterina e verificando a existência de retenção placentária e afecções do sistema reprodutor das vacas.

O exame clínico foi realizado em diferentes intervalos de tempo conforme os parâmetros a avaliar, sendo que para além destes, em todos os momentos de avaliação foram registadas a temperatura rectal e a classificação da cor e cheiro do corrimento. A temperatura rectal e o corrimento foram avaliados nos intervalos entre os 5-7 dias, 11-21 dias, 22-28 dias e 26-32 dias pós-parto (**Figura 16**).

Figura 16 - Calendarização da recolha de dados após o parto.

Parto



A definição de retenção de placenta utilizada no estudo foi a definida por Bulling *et al.* (2011), que considera ocorrer retenção placentária quando as vacas apresentavam a placenta retida por mais de 12 horas. A presença de retenção placentária foi avaliada aquando da recolha de sangue, ou seja, entre as 12 e 24 horas.

Para a avaliação da existência de patologia uterina, efetuaram-se exames ginecológicos seriados, por palpação rectal. Entre o 5º e 7º dias, para avaliar a presença de metrite tóxica, efetuou-se palpação vaginal com recolha de uma amostra de corrimento vaginal para avaliação quanto à cor e cheiro (

Tabela 1). Para este procedimento, a vulva foi lavada com água e seca com algodão. Avaliou-se, também, a evolução da produção leiteira até aos 7 dpp, através do software Alpro. As vacas que foram diagnosticadas com metrite tóxica foram tratadas com anti-inflamatório não esteróide (ácido tolfenâmico) e antibiótico parenteral (ceftiofur).

Para verificar a presença de metrite clínica, endometrite antes e após administração de PGF2-alfa, avaliaram-se, respectivamente, entre os 11º-21º dias, entre os 22º-28º e entre os 26º-32º dias, com recolha de uma amostra de corrimento vaginal através do uso do Metrichcek, e caracterização quanto à cor e ao cheiro (

Tabela 1). Neste procedimento, a vulva foi lavada com água e seca com algodão e o dispositivo Metrichcek foi limpo com água e desinfetado com toalhita de álcool, entre cada utilização.

Tabela 1 – Critérios de classificação do corrimento vaginal.

| | 5-7 dpp | 11 até 32 dpp |
|---------------|---|--|
| Cor | Transparente/mucoso Purulento Sanguinolento | Transparente/mucoso Mucopurulento Purulento Sanguinolento |
| Cheiro | | Inodoro Rançoso Fétido |

Nos intervalos entre os 11º-21º dias, os 22º-28º e os 26º-32º dias, efectuou-se ainda avaliação por palpação rectal, onde foi caracterizado o tamanho do cérvix (< 5 cm, 5-7,5 cm e > 7,5 cm), o tamanho do útero (consegue-se agarrar, agarra-se mal, não se agarra), a posição do útero (abdominal, semi-pélvico ou pélvico) e a simetria dos cornos uterinos (simétricos ou assimétricos).

Através da realização de ecografia transrectal entre os 19º-25º dias pós-parto, realizada pelo médico veterinário da exploração, avaliou-se a função ovárica, classificada em: ovários inativos, presença de folículo ou presença de corpo lúteo. No entanto, é de referir que não foi possível realizar a avaliação por ecógrafo durante todo o estudo, uma vez que o aparelho disponível sofreu uma avaria, tendo sido apenas possível avaliar ecograficamente 42 vacas. A avaliação da função ovárica das restantes 36 vacas passou então a ser realizada através de palpação rectal. A função ovárica passou a ser classificada em: com ou sem atividade.

Todas as avaliações descritas foram efectuadas por duas pessoas independentes, de modo a comparar os resultados obtidos e obter uma maior fiabilidade.

3.7. Análise estatística

Através dos registos recolhidos, foi criada uma base de dados recorrendo ao Microsoft Excel for Mac 2011, versão 14.1.4..

Na análise descritiva simples dos valores de cálcio obtidos foram descritos a média e o desvio-padrão para o número de lactações, para a avaliação do tamanho do cérvix e útero à palpação e todas as afecções estudadas.

Para o cálculo da incidência foi utilizada a seguinte fórmula: $\frac{\text{Número de casos observados}}{\text{Número de casos totais}} \times 100$.

A análise estatística foi executada com recurso aos softwares Microsoft Excel for Mac 2011, versão 14.1.4 e IBM SPSS Statistics versão 21. Esta análise foi dividida em duas partes. Numa primeira fase a presença de hipocalcémia subclínica foi definida como uma variável binomial (presente/ausente) e foi analisada a sua associação com a ocorrência de algumas das restantes variáveis em estudo, recorrendo a Testes Exactos de Fisher, uma vez que se verificaram observações com frequências esperadas inferiores a 5.

A segunda fase consistiu na avaliação da correlação entre as diferentes concentrações de cálcio ionizado e as diversas alterações e afecções estudadas, bem como as suas inter-relações. Para esta análise foi utilizada uma correlação de Pearson. Para este teste foi atribuído um valor numérico para a ocorrência das diversas afecções (0 = sem patologia; 1 = com patologia).

Para todos os testes utilizou-se uma significância de $\alpha=0,05$.

4. Resultados

4.1. Análise descritiva

Foram incluídas no estudo 80 vacas multíparas recém-paridas. Duas morreram e foram excluídas do estudo: uma devido a clostridiose aos 3 dias pós-parto e outra por refugo aos 19 dias pós-parto. Em ambos os casos, apenas foi possível avaliar algumas das variáveis em estudo. Ainda, durante o período de estudo houve 2 casos de hipocalcemia clínica, que não foram incluídas, pois foram tratadas com compostos de cálcio.

Os valores médios de cálcio ionizado obtidos estão descritos na tabela 2. Para a totalidade das vacas no estudo a média foi de $0,97 \pm 0,15$ mmol/L.

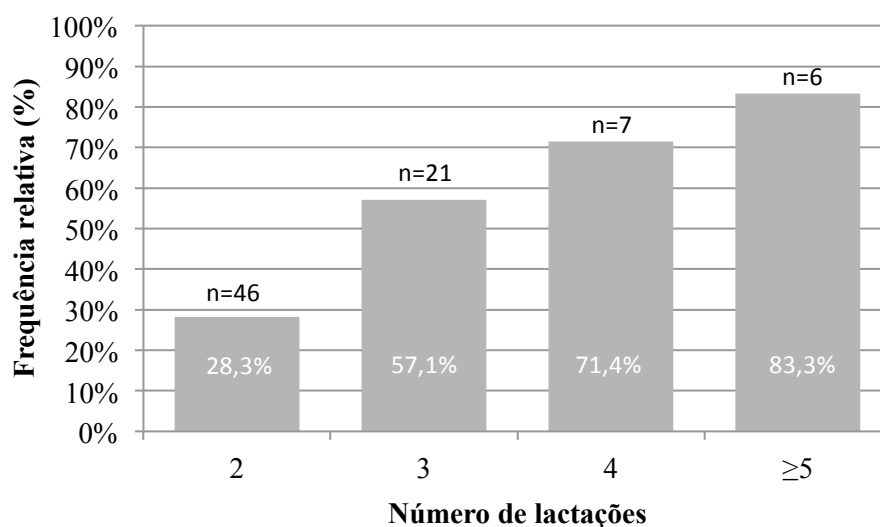
Analizando os valores médios das vacas com diferentes números de lactação, verifica-se que o valor médio de cálcio ionizado diminui com o número de lactações (Tabela 2).

Tabela 2 - Análise descritiva dos valores de cálcio ionizado (mmol/L) por número de lactação.

| Valores de cálcio ionizado (mmol/L) | | | | | |
|-------------------------------------|----|--------|--------|-------|---------------|
| Número de lactações | N | Mínimo | Máximo | Média | Desvio-padrão |
| Total | 80 | 0,53 | 1,57 | 0,97 | 0,15 |
| 2 lactações | 46 | 0,74 | 1,57 | 1,03 | 0,12 |
| 3 lactações | 21 | 0,61 | 1,09 | 0,92 | 0,15 |
| 4 lactações | 7 | 0,67 | 1,09 | 0,88 | 0,14 |
| ≥ 5 lactações | 6 | 0,53 | 1,00 | 0,77 | 0,18 |

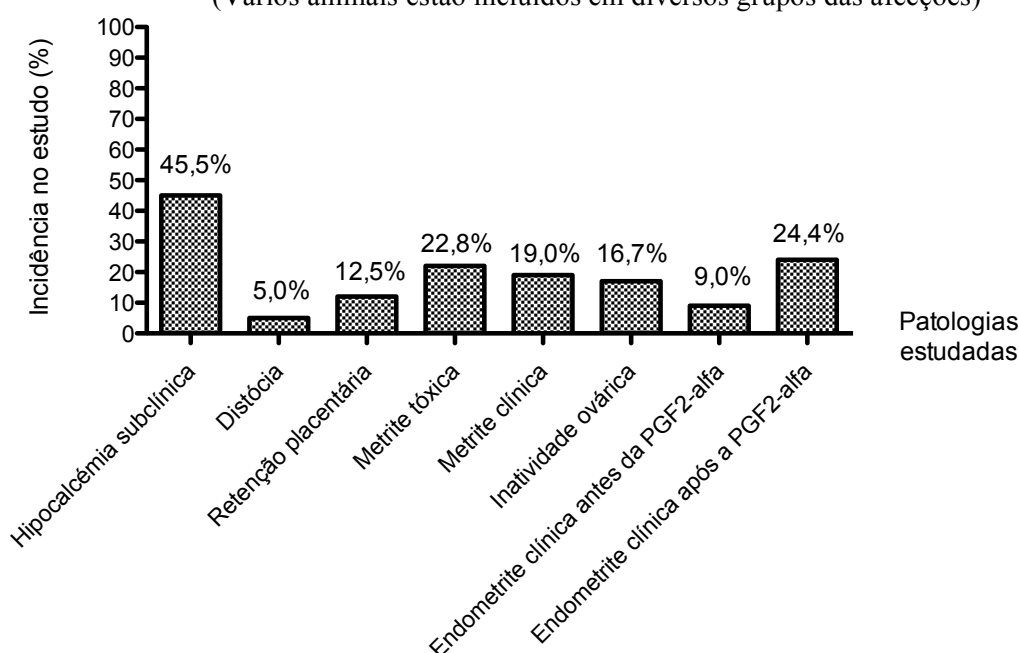
Verifica-se também que a frequência relativa de animais com hipocalcemia subclínica aumenta gradualmente com o número de lactações (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Variação da frequência relativa do número de animais com hipocalcemia subclínica por número de lactações (n – frequência absoluta).



A avaliação da evolução do aparelho reprodutivo e da ocorrência de doenças associadas foi realizada até aos 32 dpp. Neste período obteve-se uma incidência de 45,5% (35 vacas) para a hipocalcemia subclínica, de 5% (4 vacas) para distócia, de 12,5% (10 vacas) para a retenção placentária, de 22,8% (18 vacas) para a metrite tóxica, de 19,0% (15 vacas, das quais 9 resultam da evolução de metrite tóxica) para a metrite clínica e de 16,7% para inatividade ovárica (13 vacas). Em relação à endometrite clínica, a incidência foi calculada em dois tempos diferentes, antes e após a administração de PGF2-alfa. Verificou-se que 9,0% das vacas (7 animais) foram diagnosticadas antes da administração e 24,4% (19 animais) após a administração da hormona (Gráfico 2 e Tabela 3).

Gráfico 2 - Incidência no estudo das patologias estudadas.
(Vários animais estão incluídos em diversos grupos das afecções)



Relativamente à análise descritiva dos valores de cálcio ionizado obtidos para todas as afecções estudadas, verificou-se que o valor médio de cálcio observado na hipocalcemia subclínica foi de $0,84 \pm 0,12$ mmol/L, $0,82 \pm 0,12$ mmol/L para distócia, $0,89 \pm 0,15$ mmol/L para a retenção placentária, $0,94 \pm 0,16$ mmol/L para a metrite tóxica, $0,97 \pm 0,15$ mmol/L para a metrite clínica e $0,96 \pm 0,12$ mmol/L para a inatividade ovárica (Tabela 3).

Quanto à endometrite clínica antes e após a administração de PGF2-alfa, o valor médio observado foi respectivamente $0,88 \pm 0,15$ mmol/L e $0,96 \pm 0,14$ mmol/L (Tabela 3).

Tabela 3 - Análise descritiva dos valores de cálcio ionizado (mmol/L) obtidos para as afecções estudadas.

| | mmol/L | | | | |
|---------------------------------|--------|--------|--------|-------|---------------|
| | N | Mínimo | Máximo | Média | Desvio-padrão |
| Hipocalcemia | 35 | 0,53 | 0,99 | 0,84 | 0,12 |
| Distócia | 4 | 0,67 | 0,97 | 0,82 | 0,12 |
| Retenção placentária | 10 | 0,67 | 1,15 | 0,89 | 0,15 |
| Metrite tóxica | 18 | 0,61 | 1,15 | 0,94 | 0,16 |
| Metrite clínica | 15 | 0,67 | 1,14 | 0,97 | 0,15 |
| Inatividade ovárica | 13 | 0,67 | 1,09 | 0,96 | 0,12 |
| Endometrite pré-PGF2- α | 5 | 0,67 | 1,09 | 0,88 | 0,15 |
| Endometrite após PGF2- α | 19 | 0,61 | 1,14 | 0,96 | 0,14 |

Relativamente aos valores de cálcio ionizado, estes foram agrupados em intervalos de modo a avaliar a distribuição do número de animais com as várias afecções estudadas (Tabela 4). O grupo de animais com retenção placentária apresentou um maior número de casos quando o cálcio ionizado se encontrava entre [0,80;0,90[. Quanto à metrite tóxica, metrite clínica, inatividade ovárica e para ambos os casos de endometrite (antes e após PGF2-alfa), observou-se uma concentração de casos quando o cálcio ionizado se encontra entre [1,00;1,10[(Tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição do número de animais com as várias afecções estudadas pelos intervalos de cálcio ionizado (mmol/L).

| Patologia | Níveis de cálcio ionizado (mmol/L) | | | | | Total |
|-----------------------------|------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------|
| | < 0,80 | [0,80;0,90[| [0,90;1,00[| [1,00;1,10[| $\geq 1,10$ | |
| Distócia | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 4 |
| Retenção placentária | 2 | 3 | 2 | 2 | 1 | 10 |
| Metrite tóxica | 3 | 1 | 3 | 9 | 2 | 18 |
| Metrite clínica | 2 | 2 | 4 | 6 | 1 | 15 |
| Inatividade ovárica | 2 | 4 | 2 | 5 | 0 | 13 |
| Endometrite antes PGF2-alfa | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 5 |
| Endometrite após PGF2-alfa | 1 | 3 | 4 | 9 | 2 | 19 |

Para observar a involução do útero ao longo do estudo registou-se a evolução do tamanho do cérvix e útero à palpação. Analisando os dados obtidos (Tabela 5), verificou-se que em ambos os casos o tamanho vai diminuindo ao longo do estudo.

Tabela 5 - Análise descritiva da evolução dos tamanhos do útero e cérvix
(Classes de tamanho do cérvix: 1 (< 5cm) ; 2 (5-7,5 cm); 3 (>7,5cm))
(Classes de tamanho do útero: 1 (agarra-se bem); 2 (agarra-se mal); 3 (não se agarra)).

| | N | Média | Desvio-padrão |
|------------------------------------|----|-------|---------------|
| Tamanho Cérvix (11-21 dias) | 79 | 2,8 | 0,5 |
| Tamanho Cérvix (22-28 dias) | 78 | 1,8 | 0,8 |
| Tamanho Cérvix (26-32 dias) | 78 | 1,4 | 0,6 |
| Tamanho Útero (11-21 dias) | 79 | 2,2 | 0,8 |
| Tamanho Útero (22-28 dias) | 78 | 1,4 | 0,6 |
| Tamanho Útero (26-32 dias) | 78 | 1,3 | 0,6 |

4.2. Análise estatística

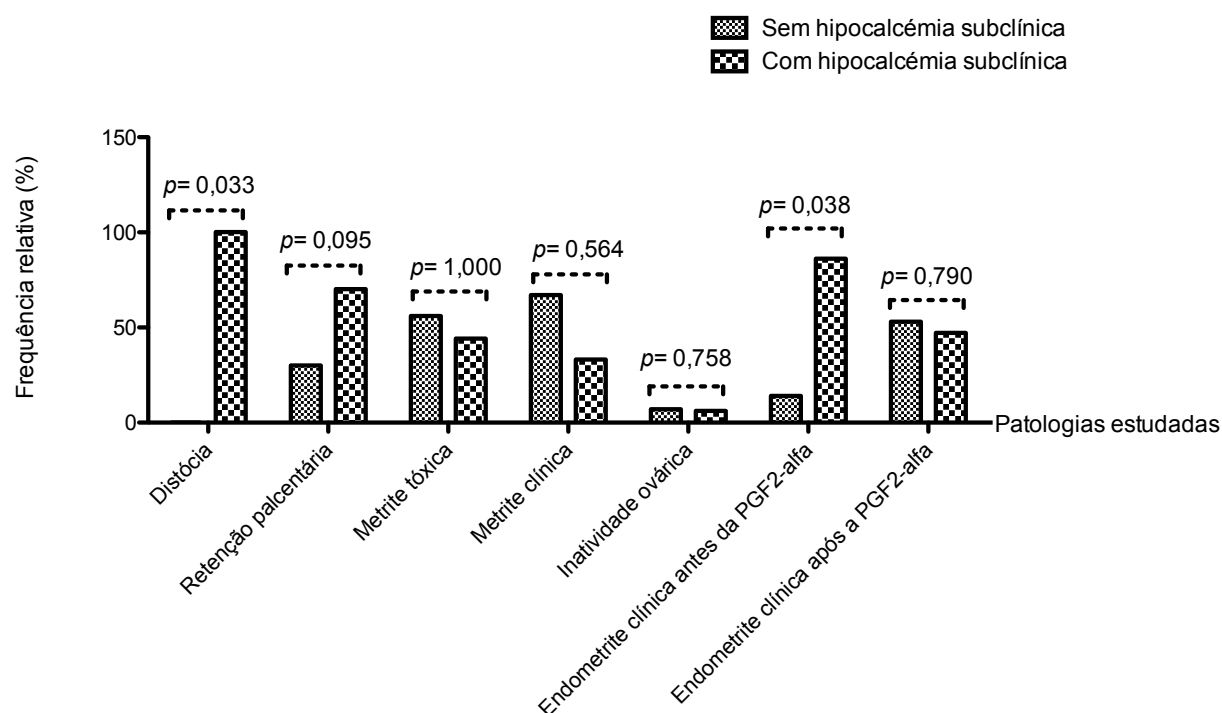
Esta secção foi dividida em duas partes. Numa primeira fase a presença de hipocalcémia subclínica foi definida como uma variável binomial (presente/ausente) e foi analisada a sua associação com a ocorrência de algumas das restantes variáveis em estudo.

A segunda fase consistiu na avaliação da correlação entre as diferentes concentrações de cálcio ionizado e as diversas alterações e afecções estudadas, bem como as suas inter-relações.

Relativamente ao desenvolvimento de hipocalcémia subclínica e a ocorrência de afecções do aparelho reprodutivo, não se observou a existência de associações estatisticamente significativas para várias categorias, nomeadamente para retenção placentária ($p=0,095$), metrite tóxica ($p=1,000$), metrite clínica ($p=0,564$), inatividade ovárica ($p=0,758$) e para endometrite clínica após administração de PGF2-alfa ($p=0,790$).

Foram, no entanto, obtidas duas correlações significativas, entre a hipocalcemia subclínica e a distócia ($p=0,033$) e entre hipocalcemia subclínica e endometrite clínica antes da administração de PGF2-alfa ($p=0,038$). Assim é possível que haja maior probabilidade das vacas que sofreram distócia desenvolverem hipocalcemia subclínica pós-parto. Há, também, maior probabilidade de desenvolverem endometrite clínica antes da administração de PGF2-alfa caso apresentem hipocalcemia subclínica pós-parto (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Comparação de frequência relativa de hipocalcemia subclínica nas diferentes patologias analisadas.



Para a avaliação da correlação entre as diferentes concentrações de cálcio ionizado e as diversas alterações e afecções estudadas, bem como as suas inter-relações, os animais foram organizados em grupos, de acordo com a sua concentração sanguínea de cálcio ionizado, como já referido.

Os resultados das correlações de Pearson realizadas estão expressos na Tabela 6.

Relativamente às concentrações sanguíneas de cálcio ionizado, a única correlação detectada foi com o número de lactações (sig. = 0,000). Esta correlação foi negativa ($r = -0,500$) o que significa que vacas com mais lactações têm tendencialmente concentrações mais baixas de cálcio ionizado.

O número de lactações também se correlacionou significativamente com a ocorrência de retenção placentária (sig.=0,006); metrite tóxica (sig.=0,045) e endometrite antes da administração de PGF2-alfa (sig.=0,004). Todas estas correlações foram positivas ($r = 0,303$;

$r = 0,226$ e $r = 0,319$, respectivamente), o que indica que animais com mais lactações têm uma maior incidência destas afecções.

Relativamente à análise da associação entre diferentes afecções, observou-se que a ocorrência de RP correlacionou-se significativamente com o desenvolvimento de metrite tóxica e clínica ($r = 0,565$; sig.= 0,000 entre RP e metrite tóxica e $r = 0,436$; sig.= 0,000 entre RP e metrite clínica). Outra associação estatisticamente significativa observada foi entre a ocorrência de metrite tóxica e metrite clínica ($r = 0,506$; sig.= 0,000).

Não se observou quaisquer associações significativas envolvendo a ocorrência de distócia, inatividade ovárica ou desenvolvimento de endometrite após administração de PGF2-alfa.

Tabela 6 - Correlação entre as várias afecções em estudo. As correlações significativas para $\alpha = 0,05$ estão em destaque.

| | | Níveis de cálcio ionizado | Número de lactações | Distócia | RP | Metrite Tóxica | Metrite Clínica | Inatividade Ovárica | Endometrite pré-PGF2-alfa | Endometrite pós-PGF2-alfa |
|---------------------------|------|---------------------------|---------------------|----------|-------------|----------------|-----------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|
| Níveis de cálcio ionizado | r | 1 | -,500 | -,208 | -,193 | -,053 | ,023 | ,025 | -,207 | -,042 |
| | Sig. | | ,000 | ,064 | ,087 | ,640 | ,838 | ,826 | ,070 | ,714 |
| | N | 80 | 80 | 80 | 80 | 79 | 79 | 78 | 78 | 78 |
| Número de lactações | r | -,500 | 1 | ,084 | ,303 | ,226 | ,103 | -,086 | ,319 | -,054 |
| | Sig. | ,000 | | ,459 | ,006 | ,045 | ,368 | ,452 | ,004 | ,641 |
| | N | 80 | 80 | 80 | 80 | 79 | 79 | 78 | 78 | 78 |
| Distócia | r | -,208 | ,084 | 1 | -,087 | -,125 | -,112 | -,052 | ,176 | -,132 |
| | Sig. | ,064 | ,459 | | ,444 | ,271 | ,327 | ,651 | ,122 | ,250 |
| | N | 80 | 80 | 80 | 80 | 79 | 79 | 78 | 78 | 78 |
| RP | r | -,193 | ,303 | -,087 | 1 | ,565 | ,436 | ,038 | ,084 | ,005 |
| | Sig. | ,087 | ,006 | ,444 | | ,000 | ,000 | ,743 | ,464 | ,965 |
| | N | 80 | 80 | 80 | 80 | 79 | 79 | 78 | 78 | 78 |
| Metrite Tóxica | r | -,053 | ,226 | -,125 | ,565 | 1 | ,506 | -,014 | ,115 | ,134 |
| | Sig. | ,640 | ,045 | ,271 | ,000 | | ,000 | ,904 | ,314 | ,240 |
| | N | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 78 | 78 | 78 |
| Metrite Clínica | r | ,023 | ,103 | -,112 | ,436 | ,506 | 1 | -,060 | ,150 | ,202 |
| | Sig. | ,838 | ,368 | ,327 | ,000 | ,000 | | ,603 | ,189 | ,077 |
| | N | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 78 | 78 | 78 |
| Inatividade Ovárica | r | ,025 | -,086 | -,052 | ,038 | -,014 | -,060 | 1 | -,023 | ,093 |
| | Sig. | ,826 | ,452 | ,651 | ,743 | ,904 | ,603 | | ,839 | ,416 |
| | N | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 |
| Endometrite pré-PGF2-alfa | r | -,207 | ,319 | ,176 | ,084 | ,115 | ,150 | -,023 | 1 | ,217 |
| | Sig. | ,070 | ,004 | ,122 | ,464 | ,314 | ,189 | ,839 | | ,056 |
| | N | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 |
| Endometrite pós-PGF2-alfa | r | -,042 | -,054 | -,132 | ,005 | ,134 | ,202 | ,093 | ,217 | 1 |
| | Sig. | ,714 | ,641 | ,250 | ,965 | ,240 | ,077 | ,416 | ,056 | |
| | N | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 |

Avaliou-se, ainda, a existência de associação entre os níveis de cálcio e o tamanho do cérvix e do útero à palpação, não tendo sido observada qualquer associação para o tamanho do útero (Tabela 7). Apenas se obteve uma correlação significativa entre a diminuição dos níveis de cálcio e um cérvix de maior tamanho, nos intervalos de avaliação 22-28 dpp e 26-32 dpp que correspondem, respectivamente, à avaliação para endometrite clínica antes e após administração de PGF2-alfa. Isto significa que à medida que o nível de hipocalcemia se vai agravando, a involução do cérvix torna-se mais retardada.

Tabela 7 - Correlação entre os níveis de cálcio ionizado (mmol/L) e o tamanho do cérvix e do útero à palpação.

| | Tamanho do cérvix | | | Tamanho do útero | | |
|-------------|-------------------|---------------|---------------|------------------|------------|------------|
| | 11-21 dias | 22-28 dias | 26-32 dias | 11-21 dias | 22-28 dias | 26-32 dias |
| p | -0,029 | -0,240 | -0,411 | 0,151 | -0,152 | 0,080 |
| Sig. | 0,803 | 0,035 | 0,000 | 0,184 | 0,185 | 0,488 |
| N | 79 | 78 | 78 | 79 | 78 | 78 |

5. Discussão

5.1. Hipocalcémia subclínica

A incidência de hipocalcémia subclínica obtida neste estudo (45,5%), está de acordo com o descrito na literatura. Reinhardt *et al.* (2011) e Santos *et al.* (2012) observaram valores de incidência semelhantes em estudos realizados nos EUA, nos quais 41% das vacas multíparas apresentaram hipocalcémia subclínica nas primeiras 48 horas após o parto. Crnkic *et al.* (2010) afirmam que a hipocalcémia subclínica é mais frequente em vacas com duas ou mais lactações, podendo atingir cerca de 50%. Divers & Peek (2008) propõem que uma incidência de hipocalcémia superior a 30% deve ser considerada preocupante, sendo o caso deste estudo. Na análise estatística verificou-se haver uma associação significativa entre o número de lactações e o desenvolvimento de hipocalcémia subclínica ($sig=0,000$), o que pode ser explicado pelo facto de as concentrações séricas de cálcio diminuírem de forma mais significativa em vacas de maior idade. Segundo Oetzel (2011) e Bisinotto *et al.* (2012), a hipocalcémia subclínica pode afetar até 50% das vacas com duas ou mais lactações. O risco de hipocalcémia aumenta à medida que as vacas envelhecem devido à diminuição da massa óssea, da reserva óssea de cálcio, da capacidade de remodelação óssea e da capacidade de resposta à PTH. Em animais mais idosos, há ainda uma menor absorção intestinal de cálcio e redução dos receptores de PTH nos tecidos periféricos (Lean *et al.*, 2006; Divers & Peek, 2008).

5.2. Distócia

A incidência de distócia obtida no presente estudo foi de 5%, sendo que todas as vacas afetadas também vieram a apresentar hipocalcémia subclínica. Este fato permitiu obter uma associação significativa entre estas duas variáveis ($p=0,033$), indo de encontro com o descrito na bibliografia (Mulligan *et al.*, 2006; Goff, 2008; Divers & Peek, 2008; Bisinotto *et al.*, 2012). Devido ao papel que o cálcio desempenha na contração muscular, a ocorrência de hipocalcémia leva a alterações com diversas consequências, nomeadamente diminuição da motilidade uterina. Esta associação obtida também pode ser explicada pela possibilidade de as vacas que fizeram distócia estarem mais susceptíveis a desenvolverem posteriormente hipocalcémia, devido ao esforço excessivo e prolongado durante o parto, com depleção das reservas de cálcio.

5.3. Retenção placentária

A incidência obtida neste estudo (12,5%) é ligeiramente superior à normalmente referida na bibliografia, entre 3 e 10% consoante a definição utilizada (Scott *et al.*, 2011). A hipocalcémia é um dos factores que influencia diretamente o desenvolvimento de retenção placentária (Andrews *et al.*, 2008 e Angrimani *et al.*, 2011), sendo que vacas com hipocalcémia são três vezes mais propensas a desenvolver RP (Santos *et al.*, 2002; Risco, 2004; Goff, 2011; Galvão, 2012). Isto acontece porque a hipocalcémia tem um impacto negativo sobre a contração uterina, essencial para a expulsão da placenta, bem como na atividade fagocítica de leucócitos do lúmen uterino, que medeiam a separação e expulsão da placenta, contribuindo assim para um maior risco de RP (Lewis, 1997; Santos *et al.*, 2002; Scott *et al.*, 2011).

A incidência de RP obtida neste estudo, não obstante a relação com o desenvolvimento de hipocalcémia subclínica não ser estatisticamente significativa ($p = 0,095$), pode ser explicada por outros fatores que a podem influenciar diretamente, nomeadamente:

- **Estado nutricional dos animais** – Nos casos de deficiência de vitamina A e alteração do metabolismo cálcio-fósforo verifica-se um aumento de casos de retenção placentária (Horta, 2000; Akar, 2005);
- **Alteração da vitamina E e selénio** – Tendo em conta o seu importante papel na regulação da função dos neutrófilos e resposta imunológica que medeia a expulsão da placenta, contribuem para esta incidência, como descrito, quando ocorrem alterações imunológicas (ex: alteração da função dos neutrófilos, diminuição da capacidade quimiotáctica e fagocítica dos leucócitos e número reduzido de linfócitos T e B) nos placentomas (Horta, 2000; Kimura *et al.*, 2002; Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011);
- **Existência de trauma durante o parto** (distócia, cesariana ou placentite) –pode causar alterações da micro-circulação da placenta, que condicionam um aumento da pressão sanguínea das vilosidades e o seu encarceramento nas criptas maternas, mediado pelo colapso precoce dos grandes vasos umbilicais (Horta, 2000; Kimura *et al.*, 2002; Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011).

A associação significativa obtida entre o número de lactações e a ocorrência de RP ($\text{sig}=0,006$) está de acordo com o descrito por Horta (2000) e Angrimani *et al.* (2011), que referem que o desenvolvimento desta patologia se correlaciona com o número de partos (primíparas e múltiparas), sendo de 3,5% nas primeiras e de 24,4% nas vacas com 9 partos.

Apesar das causas para este fenómeno não serem ainda totalmente conhecidas, isto pode ser explicado pelo fato das vacas com mais lactações estarem mais sujeitas a desenvolverem hipocalcémia pós-parto, e esta está envolvida de forma indireta no seu desenvolvimento. Outra possibilidade está relacionada com o fato de estes animais, devido às suas maiores exigências na produção leiteira, se encontrarem com uma função diminuída das células do sistema imunitário, envolvida na expulsão da placenta.

A associação entre RP, metrite tóxica e metrite clínica obtida neste estudo está de acordo com o descrito na bibliografia, apesar deste factor predisponente não ser essencial para o desenvolvimento de metrite (Lewis, 1997; Divers & Peek, 2008; Scott *et al.*, 2011). Em geral os estudos realizados apresentam uma relação direta entre o desenvolvimento de RP e aumento da probabilidade de uma vaca desenvolver metrite (Lewis, 1997). A placenta retida, ao servir como meio de entrada para microorganismos e contribuir para a presença de elevadas quantidades de tecido necrosado no lúmen uterino, proporciona um ambiente ideal para o crescimento bacteriano. Assim, a RP é considerada o principal factor predisponente ao desenvolvimento de metrite, sendo que as vacas afectadas apresentam um risco 6 vezes maior de desenvolver metrite. A metrite é a patologia mais frequentemente associada ao desenvolvimento de RP (Opsomer & Kruif, 2009).

5.4. Metrite

Neste estudo obteve-se uma incidência de 22,8% para a metrite tóxica e de 19,0% para a metrite clínica, de acordo com os valores referidos na bibliografia, entre 8 a 40%, afectando geralmente 20% das vacas no pós-parto (Rodrigues *et al.*, 2008; Sheldon *et al.*, 2009; Mazurek *et al.*, 2009; Galvão, 2012). No entanto, interessa referir que muitos autores não diferenciam metrite tóxica de metrite clínica, não descrevendo incidências relativas a cada uma.

Numerosas referências bibliográficas relacionam o aumento da incidência de metrite em vacas que desenvolvem hipocalcémia no pós-parto (Lewis, 1997; Scott *et al.*, 2011), sugerindo que a queda da concentração sérica de cálcio nos primeiros três dias pós-parto possa ser um importante previsor do desenvolvimento de metrite (Galvão, 2012). Neste estudo, contudo, não foi possível estabelecer uma correlação significativa entre a presença de hipocalcémia e o desenvolvimento de metrite ($p \geq 0,5$), sendo que o valor médio de cálcio ionizado para metrite tóxica foi de 0,94 e de 0,97 para metrite clínica.

No entanto, verificou-se a existência de associação entre metrite tóxica e metrite clínica ($sig=0,000$). Quando as vacas desenvolvem metrite tóxica associada a sinais sistêmicos, caso o animal sobreviva, esta pode evoluir para metrite clínica (Horta, 2000; Bulling *et al.*, 2011; Angrimani *et al.*, 2011), o que pode explicar estes resultados.

Obteve-se também uma associação significativa entre o número de lactações e o desenvolvimento de metrite tóxica ($sig=0,045$). Para explicar esta associação é importante relembrar a correlação entre a hipocalcemia e o número de lactações já estabelecido neste estudo, que demonstra que as vacas com mais lactações são as que desenvolvem hipocalcemia com mais frequência. Assim estas vacas apresentam, em geral, uma atividade contrátil do miométrio reduzida, importante para a limpeza do lúmen uterino, e consequentemente há menor expulsão de lóquias e maior desenvolvimento de metrite (Mateus & Lopes da Costa, 2002).

5.5. Inatividade ovárica

No presente estudo obteve-se uma incidência de inatividade ovárica de 16,7%. Após o parto e antes do início de um novo ciclo reprodutivo, é comum que a vacas leiteiras passem por um período de aciclicidade/quiescência sexual, de duração indefinida. Quando não se observa ovulação até ao 50º dia pós-parto, este período deve ser considerado anormalmente longo. Este fenómeno de aciclicidade ocorre devido à falha de ovulação de um folículo apesar de uma série destes continuar a crescer e a regredir (Ball & Peters, 2004).

A atividade ovárica e as interações hormonais responsáveis pelo controlo da função cíclica ovárica normal podem, também, ser alteradas por diversos outros fatores, nomeadamente:

- Presença de contaminação bacteriana no útero pós-parto (Sheldon *et al.*, 2002; Ball & Peters, 2004);
- BEN que pode comprometer as funções reprodutivas e, quando observado durante as primeiras semanas de lactação, pode reduzir a resposta do ovário à estimulação de LH, assim como afetar a secreção desta hormona (Santos *et al.*, 2002; Bisinotto *et al.*, 2012).

Neste estudo e não obstante a todos os fatores descritos, não foi possível estabelecer uma correlação significativa entre a presença de hipocalcemia subclínica e o desenvolvimento de inatividade ovárica ($p=0,758$), tal como sucedeu com Mateus & Lopes da Costa (2002). O manejo alimentar das vacas em estudo pode explicar este resultado, pois possivelmente evita que as vacas desenvolvam balanço negativo de nutrientes e BEN grave.

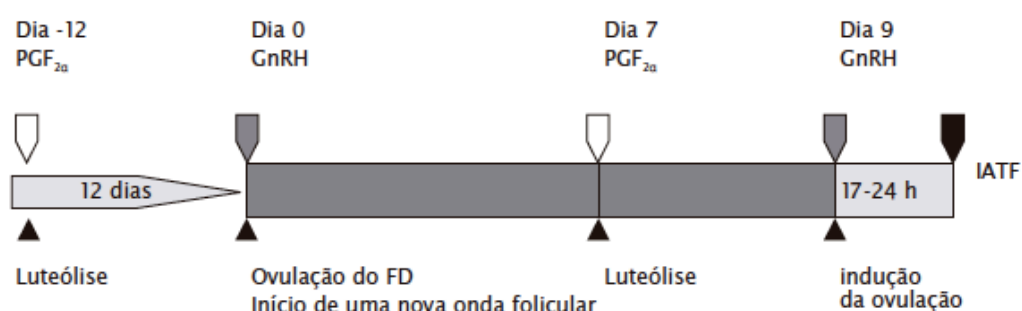
Também não foram encontradas associações com as afecções uterinas estudadas, como aconteceu com Sheldon *et al.* (2002). Em ambos os casos a ausência de relação pode estar ligada à mudança forçada do método de avaliação dos ovários ocorrida a meio do estudo.

5.6. Endometrite

Neste estudo, a incidência de endometrite verificada antes da administração de PGF2-alfa e após a administração de PGF2-alfa foi, respectivamente, de 9,0% e 24,4%. De acordo com a bibliografia e apesar da variabilidade entre autores, a incidência descrita situa-se entre 7,5 e 40%, quando o seu diagnóstico é baseado na visualização de um corrimento vaginal mucopurulento (Divers & Peek., 2008; Scott *et al.*, 2011).

A exploração onde foi efectuado o estudo pratica um protocolo de reprodução (PreSynch) que permite, de forma sistemática, sincronizar e inseminar as vacas de modo a obter taxas máximas de gestação com o mínimo de mão-de-obra. O protocolo PreSynch permite sincronizar as vacas para a fase inicial do ciclo éstrico, de forma a obter respostas máximas à GnRH administrada posteriormente, segundo o protocolo OvSynch, contribuindo para o aumento da taxa de gestação (Dejarnette, 2013). O PreSynch é caracterizado por uma ou duas administração de PGF2-alfa, aos 26 e 14 dias antes da primeira administração de GnRH do protocolo OvSynch, de modo a assegurar que a maioria das vacas estará entre o 5º e 12º dia do ciclo éstrico na altura da primeira administração de GnRH (McSweeney, 1998) (Figura 17).

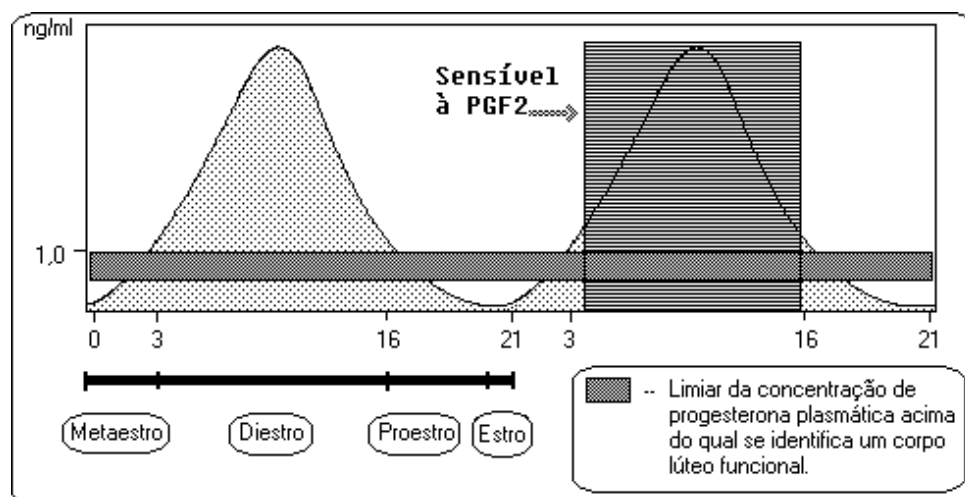
Figura 17 – Esquema do protocolo PreSynch (imagem adaptada de www.merck-animal-health.com)



Para além deste protocolos, a exploração administra adicionalmente uma dose de PGF2-alfa por volta dos 25 dias pós-parto (tolerância de 3 dias), ou seja, 14 dias antes da implementação do PreSynch. Esta administração extra de PGF2-alfa serve não só para potenciar a eficácia do PreSynch, como para tratar infecções uterinas no pós parto e promover um maior número ciclos ováricos.

De acordo com Horta (1989), a administração de PGF2-alfa não provoca luteólise, ou seja, não promove a interrupção do ciclo nos primeiros cinco dias de vida do corpo lúteo, devido ao tempo necessário para se tornar funcional, concluindo que se a injeção fosse repetida cerca de 11 dias depois, todas as fêmeas estariam em diestro, apresentando um corpo lúteo funcional, e possibilitando a sincronização do cio (Figura 18).

Figura 18 - Níveis de progesterona no plasma sanguíneo durante o ciclo estrico em bovinos e momento em que o CL se torna sensível à PGF2-alfa (imagem retirada de Horta, 1989)



O aumento da incidência de endometrite verificada após a administração de PGF2-alfa (de 9,0% para 24,4%) observado neste estudo pode ser explicado pela ação desta hormona sobre o trato reprodutivo.

A PGF2-alfa, principal responsável pela luteólise, promove a involução do útero no pós-parto, sendo essencial na prevenção de infecções uterinas e na promoção da sua involução (Fernandes *et al.*, 2003). O diagnóstico de endometrite clínica, aos 26-32 dias pós-parto, baseou-se na colheita e observação de material vaginal, recolhido com recurso ao dispositivo Metrichick. O efeito uterotônico da PGF2-alfa pode ser responsável por uma maior quantidade de corrimento. Assim, o que pode ter sucedido durante o presente estudo foi obter-se falsos negativos na avaliação realizada antes da administração de PGF2-alfa, devido à ausência de ação desta hormona.

Um estudo realizado em 2002 por Mateus & Lopes da Costa demonstrou, em vacas leiteiras, uma associação entre hipocalcemia subclínica e o desenvolvimento de endometrite puerperal. Goff (2011) também encontrou fortes evidências entre o aumento da incidência destas duas alterações.

No presente estudo, esta associação apenas foi estatisticamente significativa para a presença de endometrite clínica antes da administração de PGF2-alfa ($p=0,038$), e não após a sua administração ($p=0,790$), podendo ser justificada por todos os factores mencionados.

Foi obtida também uma associação significativa entre o número de lactações e a ocorrência de endometrite antes da administração de PGF2-alfa ($\text{sig}=0,004$), o que significa que à medida que as vacas vão tendo mais lactações, a probabilidade de desenvolverem endometrite clínica aumenta. Este resultado é consistente com a relação entre o número de lactações e a ocorrência de metrite observada neste estudo, e pode ser explicado pelo fato de as vacas com mais lactações apresentarem maiores exigências na produção de leite, estando mais imunocomprometidas e com uma capacidade de eliminação da contaminação bacteriana diminuída, logo mais susceptíveis ao desenvolvimento de infecção (Galvão, 2012)

5.7. Involução uterina

No período imediatamente após o parto o útero da vaca sofre uma atrofia rápida e coordenada, com diminuição gradual do seu tamanho e peso e aumento do tônus muscular (Senger, 2005). Para que este processo ocorra sem interferências, o útero deve encontrar-se vazio (sem fluidos acumulados), regredindo de tamanho após o parto até por volta dos 40 dias (Call, 1989).

De acordo com a análise estatística, observou-se que os animais com níveis mais baixos de cálcio ionizado apresentavam cérvix com involução retardada (maior tamanho) comparativamente aos restantes, quando a avaliação foi realizada entre os 22-32 dpp ($r\leq 0,035$). Esta associação pode ser explicada pelo importante papel do cálcio na contração muscular e função imunológica do útero, promovendo uma involução uterina normal (Mateus & Lopes da Costa, 2002).

Relativamente à ausência de associação estatística entre o tamanho do útero à palpação e as concentrações sanguíneas de cálcio ionizado, isto pode estar relacionado com a inexperiência de quem realizou o exame.

6. Conclusão

Neste estudo foi demonstrada a associação entre o maior número de lactações e o desenvolvimento de hipocalcémia subclínica no pós-parto, assim como a ocorrência de retenção placentária, metrite tóxica e endometrite, pelo que as vacas com mais lactações devem ser alvo especial de atenção neste período.

Demonstrou-se, também, que a hipocalcémia subclínica tem efeitos importantes a nível reprodutivo tanto durante, como após o parto. No parto, embora comprovada a sua associação com a ocorrência de distócia, não foi possível determinar a relação de causa-efeito, sendo para isso necessário avaliar as vacas antes e durante o parto, através da recolha de sangue. No pós-parto demonstrou-se que os efeitos da hipocalcémia subclínica, a nível reprodutivo, estão relacionados com a saúde (desenvolvimento de endometrite) e com a involução uterina (involução retardada do cérvix). Assim, é importante controlar e prevenir casos de hipocalcémia subclínica, pois o seu desenvolvimento pode estar associado a graves problemas de bem-estar e grandes perdas económicas para a exploração.

Demonstrou-se ainda neste estudo que algumas afecções típicas do pós-parto podem estar inter-relacionadas, particularmente a metrite e a retenção placentária. Assim é importante realizar-se a realização de um exame físico diário nas primeiras semanas após o parto, principalmente nas vacas com retenção placentária, que devem ser identificadas e vigiadas atentamente, mesmo após a expulsão da placenta. Os benefícios financeiros deste acompanhamento superam as suas desvantagens.

O facto de não terem sido identificadas outras correlações esperadas, nomeadamente entre a presença de hipocalcémia e retenção placentária, metrite tóxica, metrite clínica, inatividade ovárica e endometrite clínica após administração de PGF2-alfa pode dever-se à falta de experiência dos executantes na realização de avaliação através de palpação rectal, ao tamanho reduzido da amostra ou à incapacidade de se criar um ambiente com controlo total de todas as variáveis em estudo, evitando alterações na ração e administrações medicamentosas. Por tudo isto é aconselhável a realização de mais estudos sobre o assunto, com base numa amostra de maior dimensão e sem variabilidade externa ao estudo.

Bibliografia

- Akar, Y. (2005). Concentrations of Some Minerals in Cows with Retained Placenta and Abortion. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29, 1157–1162.
- Andrews, A. H., Blowey, R. H., Boyd, H., & Eddy, R. G. (2008). *Medicina Bovina – Doenças e Criação de Bovinos* (pp. 445–446, 448, 452, 454–457, 688–693).
- Angrimani, D. de S. R., Rui, B. R., Cruz, L. V. da, Romano, R. M., & Lopes, H. C. (2011). Retenção de Placenta em vacas e éguas: revisão de Literatura. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária*, (16), 1–12.
- Ball, P. J. H., & Peters, A. R. (2004). *Reproduction in Cattle - Third Edition* (pp. 1–250). Blackwell Publishing.
- Ballantine, H. T., & Herbein, J. H. (1991). Potentiometric Determination of Ionized and Total Calcium in Blood Plasma of Holstein and Jersey Cows. *Journal of Dairy Science*, 74(2), 446–449. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78190-3
- Bisinotto, R. S., Greco, L. F., Ribeiro, E. S., Martinez, N., Lima, F. S., Staples, C. R., ... Santos, J. E. P. (2012). Influences of nutrition and metabolism on fertility of dairy cows. *Animal Reproduction*, 9(3), 260–272.
- Bruno, R. G. S. (2010). Nutrition and Reproduction in Modern Dairy Cows (pp. 51–56).
- Bulling, C., Uliana, F., Strack, L., Trauer, R., & Borges, L. F. (2011). *Retenção de placenta - revisão bibliográfica* (pp. 1–3).
- Call, E. P. (1989). *Involution of the uterus of dairy cattle* (pp. 63–65).
- Chapwanya, A. (2004). Uterine disease in dairy cows : Classification , diagnosis and key roles for veterinarians. *Irish Veterinary Journal*, 61(3), 183–186.
- Charbonneau, E., Chouinard, P. Y., Tremblay, G. F., Allard, G., & Pellerin, D. (2008). Hay to Reduce Dietary Cation-Anion Difference for Dry Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 91(4), 1585–1596. doi:10.3168/jds.2007-0775
- Crnkic, C., Muratovic, S., Piplica, S., Kavazovic, A., & Kutlaca, S. (2010). Blood plasma mineral profile and health status in postpartum cows fed an anionic diet before parturition. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 34(3), 255–260. doi:10.3906/vet-0811-2
- Dejarnette, M. (2013). OvSynch , Co- Synch , PreSynch and KitchenSynch: How did breeding cows get so complicated? Retrieved from www.selectsires.com
- Divers, T. J., & Peek, S. F. (2008). *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*. (S. Elsevier, Ed.) (2° ed., p. 686). Penny Rudolph.
- Drillich, M. (2006). An Update On Uterine Infections In Dairy Cattle. *Slovenian veterinary research*, 43(January), 11–15.

- Dubuc, J. (2011). Postpartum Uterine Diseases : Prevalence , Impacts , and Treatments, 23, 255–267.
- Duffield, T. F. (2006). *Minimizing Subclinical Metabolic Diseases in Dairy Cows* (Vol. 18, pp. 43–55).
- Fernandes, C. A. de C., Oliveira, E. R. de, & Vasconcelos, T. D. (2003). Efeitos da aplicação de cloprostenol sódico no pós-parto de vacas de corte.
- Galvão, K. N. A. (2012). Risk Factors for Uterine Disease in Dairy Cows, 1–4.
- Ganguly, B. (2011). Inhibition of blood coagulation by Di-Sodium Versenate: A rapid method for estimating serum calcium in dairy cows.pdf. *Journal of animal and Veterinary Advances*, 10(23).
- Giuliodori, M. J., Magnasco, R. P., Becu-Villalobos, D., Lacau-Mengido, I. M., Risco, C. a, & de la Sota, R. L. (2013). Metritis in dairy cows: risk factors and reproductive performance. *Journal of dairy science*, 96(6), 3621–31. doi:10.3168/jds.2012-5922
- Goff, J. P. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176, 50–57. doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.020
- Goff, J. P. (2011). Impact of Milk Fever and Hypocalcemia on Reproductive Performance of the Dairy Cow. *Extension*. Retrieved from www.extension.org
- Hafez, E. S. E., & Hafez, B. (2000). *Reproduction in Farm Animals* (7th ed., pp. 152–154). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Hansen, S. S., Nørgaard, P., Pedersen, C., Jørgensen, R. J., & Mellau, L. S. B. (2003). The Effect of Subclinical Hypocalcaemia Induced by Na₂EDTA on the Feed Intake and Chewing Activity of Dairy Cows. *Veterinary Research Communications*, 27, 193–205.
- Herath, S., Dobson, H., Bryant, C. E., & Sheldon, I. M. (2006). Use of the cow as a large animal model of uterine infection and immunity. *Journal of reproductive immunology*, 69(1), 13–22. doi:10.1016/j.jri.2005.09.007
- Horta, A. E. M. (1989). Controle hormonal da reprodução: Terapêutica de distúrbios reprodutivos no pós-parto e sincronização do ciclo. *A vaca Leiteira*, 3(19), 42–47.
- Horta, A. E. M. (2000). Etiopatogenia e terapêutica da retenção placentária nos bovinos. In *7as Jornadas Internacionales de Reproducción Animal* (pp. 181–192). Murcia.
- Kimura, K., Reinhardt, T. a, & Goff, J. P. (2006). Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *Journal of dairy science*, 89(7), 2588–95. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72335-9
- Kimura, Kayoko, Goff, J. P., Kehrli, M. E., & Reinhardt, T. A. (2002). Decreased Neutrophil Function as a Cause of Retained Placenta in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 85(3), 544–550. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74107-6

- Kincaid, R. (2008). Changes in the Concentration of Minerals in Blood of Peripartum Cows. In *Mid-South Ruminant Nutrition Conference* (pp. 1–8). Arlington.
- Lager, K., & Jordan, E. (2012). The Metabolic Profile for the Modern Transition Dairy Cow. In *Mid-South Ruminant Nutrition Conference* (pp. 9–16). Grapevine.
- Lean, I. J., Degaris, P. J., Mcneil, D. M., & Block, E. (2006). Hypocalcemia in Dairy Cows : Meta-analysis and Dietary Cation Anion Difference Theory Revisited. *Journal of Dairy Science*, 89(2), 669–684. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72130-0
- Leblanc, S. (2007). Prevention of Postpartum Uterine Disease. *WCDS Advances in Dairy Technology*, 19, 145–155.
- Lewis, G. S. (1997). SYMPOSIUM : Health Problems Of The Postpartum Cow - Uterine Health and Disorders. *Journal of Dairy Science*, 984–994.
- Mateus, L., & Lopes da Costa, L. (2002). Peripartum blood concentrations of calcium , phosphorus and magnesium in dairy cows with normal puerperium or puerperal endometritis Concentrações sanguíneas de cálcio , fósforo e magnésio no periparto de vacas leiteiras com puerpério normal ou com endome. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 97, 35–38.
- Mazurek, M., Schwegler, E., M.Madeira, E., Bianchi, I., & Corrêa, M. N. (2009). *Problemas reprodutivos no pós-parto de vacas leiteiras* . (pp. 1–3). Pelotas.
- McSweeney, K. (1998). Ovulation Synchronization Programs for Improving Reproductive Performance.
- Mulligan, F., Grady, L. O., Rice, D., & Doherty, M. (2006). Production diseases of the transition cow : Milk fever and subclinical hypocalcaemia. *Irish Veterinary Journal*, 59(12), 697–702.
- Nogueira, P. (2010). Milk Fever and Low Blood Calcium in Dairy Cows. Part I. *Dairy Briefs*, 3(1), 1–8.
- Oetzel, G., & Miller, B. (2011). Managing hypocalcemia in fresh cows. *Progressive Dairyman*, 1–4.
- Oetzel, G. R. (2011). *An Update on Hypocalcemia on Dairy Farms* (pp. 80–85).
- Oliveira, A. F. De. (2008). Mecanismos de separação das membranas fetais e principais causas de retenção de placenta em bovinos. *ReHAgro*, 1–7.
- Opsomer, G., & Kruif, A. de. (2009). Metritis and endometritis in high yielding dairy cows. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 78, 83–88.
- Peligrino, R. do C., Melo, L. R. De, & Felipe, L. (2008). Retenção de placenta em vacas. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária*, (10), 1–7.
- Reinhardt, T. A., Lippolis, J. D., Mccluskey, B. J., Goff, J. P., & Horst, R. L. (2011). Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal*, 188(1), 122–124. doi:10.1016/j.tvjl.2010.03.025

- Risco, C. A. (2004). Managing The Postpartum Cow To Maximize Pregnancy Rates. In *Florida Dairy Reproduction Road Show* (pp. 10–21).
- Roche, J. R., & Berry, D. P. (2006). Periparturient Climatic , Animal , and Management Factors Influencing the Incidence of Milk Fever in Grazing Systems. *Journal of Dairy Science*, 89(7), 2775–2783. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72354-2
- Rodrigues, C. D. F. M., Parra, B. C., Santos, L. M., Pinto, E. A. T., & Lot, R. F. E. (2008). Diagnóstico e Tratamento de endometrite em bovinos.
- Santos, J E P, Bisinotto, R. S., Ribeiro, E. S., Lima, F. S., & Thatcher, W. W. (2012). Impacts of Metabolism and Nutrition During the Transition Period on Fertility of Dairy Cows (pp. 97–112).
- Santos, José E.P., Juchem, S. O., Galvão, K. N., & Cerri, R. L. A. (2002). *Transition Cow Management to Reduce Metabolic Diseases and Improve Reproductive Management* (pp. 28–44). Tulare, California.
- Sarwar, M., Zia-Ul-Hasan, & Iqbal, Z. (2000). Dietary Cation Anion Balance in the Ruminants I- Effects on Milk Fever. *International Journal of Agriculture & Biology*, 2(1-2), 151–158.
- Scott, P. R., Penny, C. D., & Macrae, A. I. (2011). *Cattle Medicine* (1st ed.). Manson Publishing.
- Senger, P. L. (2005). *Pathways to Pregnancy and Parturition* (2nd ed., p. 373). Current Conceptions. Inc.
- Sheldon, I M, Noakes, D. E., Rycroft, a N., Pfeiffer, D. U., & Dobson, H. (2002). Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction (Cambridge, England)*, 123(6), 837–45. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12052238>
- Sheldon, I Martin, Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G., & Schuberth, H. (2009). Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle. *Biology of Reproduction*, 81(April), 1025–1032. doi:10.1095/biolreprod.109.077370
- Sheldon, I Martin, Lewis, G. S., LeBlanc, S., & Gilbert, R. O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516–30. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.08.021
- Sheldon, I Martin, Williams, E. J., Miller, A. N. a, Nash, D. M., & Herath, S. (2008). Uterine diseases in cattle after parturition. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 176(1), 115–21. doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.031
- Smith, D. R., Kononoff, P. J., & Keown, J. F. (2007). Dairy Cow Health and Metabolic Disease Relative to Nutritional Factors. *NebGuide*, 1–4.
- Thilsing-Hansen, T., Jørgensen, R., & Østergaard, S. (2002). Milk Fever Control Principles : A Review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43(1), 1–19.

Anexo 1 – Relatório de actividades de estágio

O presente relatório tem como objetivo apresentar as atividades desenvolvidas durante o estágio curricular que decorreu na Exploração Fonte de Leite Lda., situada em Azambuja, onde foram realizadas/observadas atividades nas áreas de gestão, nutrição, clínica, reprodução e sanidade em pecuária leiteira. O estágio foi realizado no período de 11 de Setembro de 2012 e 30 de Abril de 2013, O horário semanal de estágio foi das 8h às 17h e ocasionalmente, algumas horas aos fins-de-semana, num total de 536 horas sob a orientação do médico veterinário. Além do estágio curricular, o estagiário procedeu, ainda, durante o mês de Maio de 2013, à recolha de amostras e dados relevantes ao tema de estudo para a tese.

O estágio consistiu no acompanhamento do médico veterinário nas suas atividades, e a atribuição de tarefas aos estagiários foi estabelecida de acordo com a necessidade/casos pontuais e a rotina da exploração. Com o decorrer do tempo, o estagiário foi ganhando mais autonomia e tendo-lhe sido atribuído maior número de tarefas, assim como a complexidade das mesmas.

De uma forma geral As atividades desenvolvidas pelo estagiário foram:

- Gestão da exploração
- Secagem das vacas
- Observação da qualidade do leite
- Detecção de cios
- Assistência nas IA
- Assistência no controlo reprodutivo
- Recolha de dados sobre a produção leiteira
- Assistência no controlo de doenças (Estado Geral; Vacinação; Administração de medicamentos; Necrópsias)
- Assistência em cirurgias
- Viteleiro
- Observação da realização da mistura da ração para a alimentação das vacas, e do funcionamento do UniFeed.

Na área da gestão da exploração, o estagiário começou por se ambientar e aprender o funcionamento dos vários sectores, rotinas e trabalhos realizados na vacaria, para além de adquirir conhecimentos sobre o software utilizado para a gestão da exploração.

A área clínica foi a mais variada e desenvolvida pelo estagiário. O estagiário procedeu à recolha de dados sobre a produção leiteira, de forma a servirem de auxílio no diagnóstico clínico.

Na avaliação do estado geral das vacas, para despiste de alterações, foi possível ao estagiário realizar o exame físico, nomeadamente, auscultação cardiopulmonar e ruminal, observação da temperatura, palpação rectal, análise da urina através da interpretação de fitas urinárias, detecção sanguínea de corpos cetónicos e administração de medicamentos.

Para além destas funções relacionados com os exames físicos, foi possível a realização de diversos tratamentos médicos, nomeadamente a administração de medicamentos e soro, canulação uterina para administração de antibióticos, vacinação e entubação esofágica.

O estagiário também participou no diagnóstico de várias alterações, nomeadamente, cetose, acidose ruminal, deslocamentos do abomaso, hipocalcémia, retenção placentária, mastites, metrites, doenças podais, abortos.

Auxiliou, ainda e por várias vezes, na detecção de claudicações e observou a realização de tratamentos podais e corte funcionais. Observou ainda o método de correção de casos de distócia, e participou na realização de alguns destes partos.

Sempre que surgiu a necessidade de se recorrer à cirurgia, o estagiário teve como tarefas a preparação do material cirúrgico necessário, auxiliar na preparação do animal, dar assistência e colaborar com o veterinário durante a mesma, para além de participar, ainda, na limpeza do local e material cirúrgico.

Assim o estagiário teve a oportunidade de assistir e colaborar em diversas cirurgias, nomeadamente, resolução de deslocamento do abomaso (10 casos), onde o procedeu à preparação da medicação anestésica e à sua inoculação local, cesarianas (2 casos) e correção de pneumovagina (1 caso) de forma a prevenir a aspiração involuntária de ar para a vagina.

O estagiário, para além destas funções antes e durante a cirurgia auxiliava, sempre que necessário, na monitorização pós-cirúrgica dos animais.

Nas atividades relacionadas com a reprodução, foi possível participar em diversas tarefas, como:

- Detecção de cios, onde o estagiário se deslocava, em horários definidos, até aos parques e observava o comportamento das vacas, durante um período de tempo, anotando o número de vacas que exibiam comportamento de cio;
- Administração de hormonas relacionadas com os protocolos PreSynch e OvSynch usados pela exploração;
- Inseminações artificiais, onde o estagiário tinha permissão para auxiliar na preparação das palhinhas de inseminação artificial;

- Controlo reprodutivo, auxilio na identificação dos animais em questão, visualização de ecografias e aquisição de mais conhecimentos sobre o método ecográfico utilizado.
- Palpação rectal para avaliação do grau de involução uterina e diagnóstico de metrites
- Utilização de Metrichack para a recolha e avaliação do corrimento.

Durante o estágio teve ainda oportunidade de realizar variados diagnósticos de gestação através de palpação rectal e aprender a trabalhar com o ecógrafo.

Na altura da secagem das vacas, colaborou na distinção entre primíparas e múltiparas, na sua marcação e na administração de medicamentos, nomeadamente, antibióticos intramamários e selantes de tetos, tendo auxiliado na secagem de, aproximadamente, 215 animais.

Para além disto, o estagiário observou e aprendeu o funcionamento da sala de ordenha e máquinas. Procedeu ao diagnostico de casos de mastite através da realização de diversos testes californianos de mastites (TCM) e ao tratamento das respectivas e, ainda, à recolha de amostras de leite para análise bacteriológica e contagem de células somáticas do tanque.

No âmbito do vitleiro, a atribuição de tarefas ao estagiários foi realizada de acordo com as necessidades diária o que permitiu auxiliar na alimentação dos vitelos recém-nascidos (até aos 7 dias de vida) e dos vitelos mais velhos, na gestão da ocupação dos parque auxiliando no deslocamentos dos vitelos de um parque para o outro, no diagnostico e tratamento de doenças e na administração de medicamentos quando necessário. Participou, ainda, no processo de descorna, corte das caudas e vacinação.

Além destas tarefas o estagiário experienciou ainda, durante um dia e na ronda da manhã, todo o processo de preparação da mistura da ração para a alimentação das vacas, com recurso a Uni Feed, e na sua distribuição.

Com a concretização destas tarefas em diversas áreas foi possível, ao estagiário, fortalecer o seu conhecimento sobre a prática no manejo dos animais, da execução de exames físicos, da administração de medicamentos e vacinações, na visualização e auxilio de cirurgias e modo de funcionamento de uma exploração leiteira.

Anexo 2 – Tabela de dados pós-parto

| | | | | |
|--|---|---------------------------|--|--|
| 12-24 horas pós-parto | | Vaca | | |
| | | Nº Lactações | | |
| | | Notas | | |
| | | Dia Parto | | |
| | | Data de recolha | | |
| | | Valores Cálcio (mmol/L) | | |
| | | Retenção Placentária | | |
| 0 - 10 dias (Metrite Tóxica) | Palpação vaginal | Tº Rectal | | |
| | | Cor Corrimento Vaginal | | |
| | | Cheiro Corrimento Vaginal | | |
| | | Produção Leiteira | | |
| | | Dx Metrite Tóxica | | |
| 11-21 dias (Metrite Clínica) | Palpação Rectal e Espéculo Vaginal e Metricheck | Cor Corrimento Vaginal | | |
| | | Cheiro Corrimento Vaginal | | |
| | | Tº rectal | | |
| | | Tamanho Cérvix | | |
| | | Simetria Cornos Uterinos | | |
| | | Posição do Útero | | |
| | | Tamanho Útero | | |
| | | Produção Leiteira | | |
| | | Dx Metrite Clínica | | |
| 19-25 dias (Atividade Ovária) | Ecografia | Actividade Ovária | | |
| 22-28 dias (Endometrite) | Palpação Rectal e Metricheck | Cor Corrimento Vaginal | | |
| | | Cheiro Corrimento Vaginal | | |
| | | Tº rectal | | |
| | | Tamanho Cérvix | | |
| | | Simetria Cornos Uterinos | | |
| | | Posição do Útero | | |
| | | Tamanho Útero | | |
| | | Produção Leiteira | | |
| 26-32 dias (Endometrite) (Com PGF2alfa) | Palpação Rectal e Metricheck | Dx Endometrite Clínica | | |
| | | Cor Corrimento Vaginal | | |
| | | Cheiro Corrimento Vaginal | | |
| | | Tº rectal | | |
| | | Tamanho Cérvix | | |
| | | Simetria Cornos Uterinos | | |
| | | Posição do Útero | | |
| | | Tamanho Útero | | |
| | | Produção Leiteira | | |
| | | Dx Endometrite Clínica | | |

